

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2001-511249

(P2001-511249A)

(43) 公表日 平成13年8月7日 (2001.8.7)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーマコード (参考)
G 0 1 N 21/27		G 0 1 N 21/27	C
33/543	5 9 5	33/543	5 9 5

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 75 頁)

(21) 出願番号 特願平10-532825  
 (86) (22) 出願日 平成10年2月3日 (1998.2.3)  
 (85) 翻訳文提出日 平成11年8月3日 (1999.8.3)  
 (86) 国際出願番号 PCT/SE 98/00196  
 (87) 国際公開番号 WO 98/34098  
 (87) 国際公開日 平成10年8月6日 (1998.8.6)  
 (31) 優先権主張番号 9700384-2  
 (32) 優先日 平成9年2月4日 (1997.2.4)  
 (33) 優先権主張国 スウェーデン (SE)  
 (81) 指定国 EP (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), AU, JP, US

(71) 出願人 バイアコア アーベ  
 スウェーデン国 ウプサラ エス-754  
 50, ラプスゲーテン 7  
 (72) 発明者 イヴァー・ション, ベングト  
 スウェーデン国 ベーリゲン エス-740  
 22, フォグデリバゲン 22  
 (74) 代理人 弁理士 山本 秀策

(54) 【発明の名称】 分析方法および分析装置

(57) 【要約】

表面上の薄層構造を検査して光学厚さに関して差異を求める方法を開示するが、この方法は、以下の工程を含む。すなわち、同表面に光を照射させて、光で同表面で内反射または外反射させる工程、第1の二次元検出器で反射光を画像化させる工程、角度および/または波長範囲にわたり、光の入射角度および/または波長を経時的または連続的に走査する工程、同表面の異なる部分から反射された光の強度を測定し、かつ、同検出器の異なる部分に衝突させる工程、および、光の異なる入射角度および/または波長において、検出された光強度から、同表面上の薄層構造の光学厚さ画像を判定する工程を含む。本発明によれば、同表面で反射された光の一部は、第2の検出器で検出され、同表面を照射する偏向光の入射角度または波長を判定する。

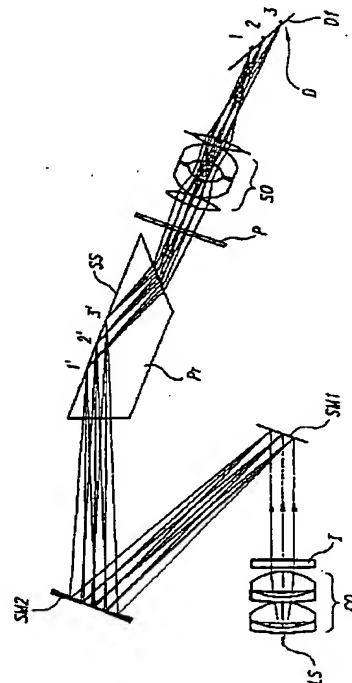


Fig. 1

**【特許請求の範囲】**

1. 表面上の薄層構造を検査して、光学厚さに関して差異を求めるための光学装置であって、

特に、サンプルとの接触の結果として、変化する光学厚さの薄層構造を示すことが可能な多数のゾーンを備える検知表面（SS）を有するセンサーユニットと

光のビームを発するための光源（LS）と、

該センサーユニットに該光ビームを連結するための光学手段（Pr）と、

第1の光検出器手段（D1）と、

該センサー表面の異なる部分から反射された光を、該反射光の強度を検出するための該第1光検出器手段（D1）に画像化させる手段（SO）と、

入射角度および／または波長（M）の範囲にわたり、該センサー表面に入射する光を経時的かつ連続的に走査する手段（SM1、SM2）と、

該検知表面に衝突する光の各角度および／または波長を判定する手段と、

該反射光の検出強度と入射光角度および／または波長との間の関係から、該センサー表面の各ゾーンの該光学厚さを判定することにより、該センサー表面の光学厚さの形態測定画像を生成するための評価手段とを備え、

該装置は第2光検出器手段（D2）を備え、また、該光の角度および／または波長を判定する該手段は、該検知表面で反射された単色光の一部を該第2光検出器手段（D2）上に集光させる手段（SO、CL1、CL2）を備え、該第2光検出器手段上の該集光光の各位置は、該検知表面（SS）に入射する光の特定角度および／または波長に関連することを特徴とする、装置。

2. 前記画像化手段は、その実像平面が前記第1光検出器手段（D1）の平面にある第1部分（SO）と、その背面集光面が前記第2光検出器手段（D2）の平面にある第2部分（SO、CL1、CL2）とを備える2焦点レンズシステムを備え、該背面集光面において、空間反射率が空間反射角度に変成されることを特徴とする、請求項1に記載の装置。

3. 前記2焦点レンズシステムの前記第1部分は球面レンズシステム（SO）であり、また、前記2焦点レンズシステムの前記第2部分は、円筒型レンズシス

テム (CL1、CL2) と組み合わされた該球面レンズシステム (SO) であることを特徴とする、請求項2に記載の装置。

4. 前記装置は波長分散要素を含み、前記背面集光面において、前記空間反射率は空間反射波長に変成されることを特徴とする、請求項1から請求項3のいずれかに記載の装置。

5. 前記第1光検出手段および前記第2光検出手段 (D1、D2) は、光検出器要素のひとつの二次元マトリクス配列の異なる部分であることを特徴とする、請求項1から請求項4のいずれかに記載の装置。

6. 前記光検出器マトリクス配列は、前記検知表面を画像化するための第1部分と、入射光の角度を判定するための第2部分と、該入射光の波長を判定するための第3部分とを備えることを特徴とする、請求項4に従属する場合の請求項5に記載の装置。

7. 前記光検出器マトリクス配列は、前記2焦点レンズシステムの画像平面に位置する第1主要検出器領域 (D1) と、前記2焦点レンズシステムの前記背面集光面に位置する第2検出器領域 (D2) とを備え、該第1主要検出器領域では、前記センサー表面の実像による各検出器要素が前記センサー表面の座標に対応するようにし、また、該第2検出器領域では、光の位置による各検出器要素が前記入射角度に対応するようにすることを特徴とする、請求項5または請求項6に記載の装置。

8. 前記光検出器マトリクス配列は、前記2焦点レンズシステムの前記画像平面に位置した第1主要検出器領域 (D1) と、前記2焦点レンズシステムの前記背面集光面に位置した第2検出器領域 (D2) とを備え、前記第1主要検出器領域では、前記センサー表面の前記実像による各検出器要素は前記センサー表面の座標に対応するようにし、そして前記第2検出器領域では、光の位置による各検出器要素が波長に対応するようにすることを特徴とした、請求項5から請求項7のいずれかに記載の装置。

9. 前記走査手段は、実質的に静止した照射センサー表面領域と所与の角度間隔についての領域位置とに関して、前記センサー表面の角度走査された平行照射を発生するために、ビーム偏向手段 (SM1、SM2) を備え、該センサー領域

- において、各表面ポイントは、同一の入射角度および波長の光線により瞬時的に照射されることを特徴とする、請求項1から請求項8のいずれかに記載の装置。
10. 前記ビーム偏向手段は、音響光学偏向器を備えることを特徴とする、請求項9に記載の装置。
11. 前記光学連結手段は、少なくとも1つの平面側部、または格子を有するプリズム (Pr) またはレンズのいずれかであることを特徴とする、請求項1から請求項10のいずれかに記載の装置。
12. 前記評価手段は、p 偏向光の最小反射率についての角度および/または波長、および/または、前記特定多数ゾーンの各々についての光の p 偏光電界成分および s 偏光電界成分の相対反射率および位相を判定するための評価ユニットを備えることを特徴とする、請求項1から請求項11のいずれかに記載の装置。
13. 前記評価手段は、前記検知表面の前記特定多数ゾーンの各々について、前記表面構造を算出および提示するための評価ユニットを備えることを特徴とする、請求項1から請求項12のいずれかに記載の装置。
14. 前記検知表面 (SS) は、サンプル中の種、特に生物分子と相互に結びつけることが可能な反応物質を支持し、検査されるべき前記薄い表面構造を生成することを特徴とする、請求項1から請求項13のいずれかに記載の装置。
15. 前記装置は、前記検知表面をサンプル溶液に晒すために、前記センサーユニットと接触状態にあるサンプル溶液容器を備えることを特徴とする、請求項1から請求項14のいずれかに記載の装置。
16. 前記サンプル溶液容器はフローセルであることを特徴とする、請求項15に記載の装置。
17. 前記サンプル溶液容器は、ジェットフローが前記検知表面に対して直交方向に向けられる、ウォールジェットフローセルであることを特徴とする、請求項16に記載の装置。
18. 前記角度走査手段は、2つの相関関係にある振動ミラー (SM1、SM2) を備えることを特徴とする、請求項1から請求項17のいずれかに記載の装置。
19. 前記角度走査手段は、振動または回転させられる固定構成の2つのミラーを備えることを特徴とする、請求項1から請求項17のいずれかに記載の装置。

20. 前記角度走査手段は、振動平面ミラー（SM1）および凹状ミラー（Mc）を備えることを特徴とする、請求項1から請求項17のいずれかに記載の装置。
21. 前記角度走査手段は、一般に凹状の円筒型固定ミラーと組合わさった並進可能に移動する平面ミラーを備えることを特徴とする、請求項1から請求項17のいずれかに記載の装置。
22. 前記角度走査手段は、前記光学連結手段と組合わさった旋回自在移動平面ミラーを備えることを特徴とする、請求項1から請求項17のいずれかに記載の装置。
23. 前記角度走査手段は、前記光学連結手段と組合わさった回転多角形平面ミラーを備えることを特徴とする、請求項1から請求項17のいずれかに記載の装置。
24. 前記角度走査手段は、振動平面ミラーおよび第1集光光学コンポーネントを含む2つのテレセントリック角度スキャナーを備え、該第1集光光学コンポーネントは走査集光線を生じ、前記集光線—集光面は第2集光光学コンポーネントの該集光線—集光面と一致し、従って、走査入射角の平行ビームを生じることを特徴とする、請求項1から請求項17のいずれかに記載の装置。
25. 前記第1の集光光学コンポーネントおよび前記第2の集光光学コンポーネントは、凸状円筒型レンズであることを特徴とする、請求項24に記載の装置。
26. 前記第1集光コンポーネントは凸状円筒型レンズであり、前記第2の事実上集光するコンポーネントは事実上集光する凹状円筒型レンズであることを特徴とする、請求項24に記載の装置。
27. 前記第1集光コンポーネントは、発散（負）レンズの形態の事実上集光するコンポーネントであり、前記第2の集光コンポーネントは凸状円筒型レンズであることを特徴とする、請求項24に記載の装置。
28. 前記角度走査手段は、旋回自在に移動する照射システムを備えることを特徴とする、請求項24に記載の装置。
29. 前記光源（LS）は、実質的に単色かつ非コヒーレントの光を発することを特徴とする、請求項1から請求項28のいずれかに記載の装置。
30. 前記光源は、干渉フィルタと組合わさった発光ダイオードであることを特徴とする、請求項29に記載の装置。

31. 前記光源 (LS) は、実質的に単色かつコヒーレント光を発することを特徴とする、請求項1から請求項28のいずれかに記載の装置。
32. 前記光源 (LS) は、半導体ダイオードレーザ、色素レーザ、またはガスレーザであることを特徴とする、請求項31に記載の装置。
33. 前記ビーム偏向手段はホログラフィックビーム偏向器を備えることを特徴とする、請求項32に記載の装置。
34. 前記光源 (LS) は連続光スペクトルを発し、更に、1種類を越える波長を連続的に提供するための走査モノクロメータと組み合わされることを特徴とする、請求項1から請求項33のいずれかに記載の装置。
35. 前記第1および第2光検出器手段 (D1、D2) の前記平面は、反射の前記平面に関して傾斜され、前記センサー表面の前記実像の前記集光面は、前記光検出器平面と一致することを特徴とする、請求項1から請求項34のいずれかに記載の装置。
36. 前記装置は、傾斜した観察視野における、入射角度の範囲についての光連結素子の内部の焦点外れの屈折について補正を行う、楔形状の透明本体を備えることを特徴とする、請求項1から請求項35のいずれかに記載の装置。
37. 前記装置は、全内反射対入射角度および/入射波長を判定する処理に基づいていることを特徴とする、請求項1から請求項36のいずれかに記載の装置。
38. 前記内反射対入射角度および/または入射波長判定は、表面プラズモン共鳴、ブリュースター角度、偏光測定法、臨界角度、または漏れ全反射導波路共鳴に基づくことを特徴とする、請求項37に記載の装置。
39. 前記センサーユニットは、前記装置で交換可能となるように設計されることを特徴とする、請求項1から請求項38のいずれかに記載の装置。
40. 前記センサーユニットは、前記光学連結手段、とりわけプリズム (Pr) または格子の統合部分であることを特徴とする、請求項1から請求項39のいずれかに記載の装置。
41. 前記センサーユニットは、前記検知表面ゾーンによりカバーされる第1部分と、入射角度および入射波長のうち少なくとも一方の走査中に、一定の屈折率を提供する第2部分とを備える、請求項1から請求項40のいずれかに記載の装置。

42. 前記装置は、前記センサーユニットと前記光学連結手段の両方の界面となるように設計された、交換可能な弾性光学連結部材を備えることを特徴とする、請求項1から請求項41のいずれかに記載の装置。

43. 前記評価手段は画像処理を提供し、同処理では、前記センサー表面についての検出コヒーレント光反射率パターンおよび干渉パターンは、前記入射角度と時間の両方に対して相関関係にあり、前記検知表面上の横方向光学厚さ分布の四次元実時間屈折率測定表示を作成することを特徴とする、請求項1から請求項40のいずれかに記載の装置。

44. 前記評価手段は画像処理を提供し、同処理では、前記センサー表面についての検出コヒーレント光反射率パターンおよび干渉パターンは、前記入射角度および／または波長と時間の両方に対して相関関係にあり、前記検知表面上の、前記全内反射で作られた減衰波の透過深さの関数として、横方向光学厚さ分布の五次元実時間屈折率表示を作成することを特徴とする、請求項1から請求項43のいずれかに記載の装置。

45. 前記評価手段は画像処理を提供し、同処理では、前記センサー表面についての検出非コヒーレント光反射率パターンは、前記入射角度と時間の両方に対して相関関係にあり、前記検知表面上の横方向光学厚さ分布の四次元実時間屈折率表示を作成することを特徴とする、請求項1から請求項40のいずれかに記載の装置。

46. 前記評価手段は画像処理を提供し、同処理では、前記検知表面についての検出非コヒーレント光反射率パターンは、前記入射角度および／または波長と時間の両方に対して相関関係にあり、前記検知表面上の、前記全内反射で作られた減衰波の透過深さの関数として、横方向光学厚さ分布の五次元実時間屈折率表示を作成することを特徴とする、請求項1から請求項40のいずれかに記載の装置。

47. 前記装置はコンピュータ手段を備えることを特徴とする、請求項1から請求項46のいずれかに記載の装置。

48. 前記装置は、前記光源（L S）と前記検出器（D）との間に設置され、光を偏光させる光学手段（P）を備えることを特徴とする、請求項1から請求項47のいずれかに記載の装置。

49. 前記光源 (LS) は偏向光を発することを特徴とする、請求項1から請求項48のいずれかに記載の装置。

50. 前記装置は入射角度または入射波長のうち少なくとも一方について走査されるビームの少なくとも一部に位置する少なくとも1つの覆いにおいて、少なくとも1つの開口を備え、角度および/または波長をモニターするために使用される光ビームの断面形状を判定することを特徴とした、請求項1から請求項49のいずれかに記載の装置。

51. 表面上の薄層構造を検査して光学厚さに関して差異を求めるための、請求項1から請求項50のいずれかに従った光学装置を利用する方法であって、

前記表面 (SS) を光で照射して、該光が該表面で内反射または外反射されるようにする工程と、

反射光を第1の二次元検出器 (D1) 上に画像化する工程と、

角度および/または波長範囲にわたり、該光の入射角度および/または波長を経時的または連続的に走査する工程と、

少なくとも多数の入射角度および/または波長において、該表面の異なる部分から反射された光の強度を測定し、および該検出器の異なる部分に衝突させる工程であって、各角度および/または波長について該表面の各部分から反射された光の該強度は、その上の薄層構造の光学厚さで決まる、工程と、

光の該異なる入射角度および/または波長における検出光強度から、該表面上の該薄層構造の光学厚さ画像を判定する工程とを含み、

該表面で反射された光の一部は第2検出器 (D2) 上で検出され、該表面を照射する偏向光の入射角度または波長を判定することを特徴とする、方法。

① 52. 前記入射角度または波長を判定するための前記光の前記部分は、点または線として前記第2検出器 (D2) 上に集光され、前記検出器上の該点または線の位置は、該入射光の角度または波長に関連づけられることを特徴とする、請求項51に記載の方法。

53. 前記入射光の前記角度は走査されることを特徴とする、請求項51または請求項52に記載の方法。

54. 前記入射光の前記波長は走査されることを特徴とする、請求項51または請



求項52に記載の方法。

55. 前記第1および第2検出器(D1、D2)は、単一光検出器マトリクス配列の異なる部分であることを特徴とする、請求項51から請求項54のいずれかに記載の方法。

56. 前記光は非コヒーレントであることを特徴とする、請求項51から請求項55のいずれかに記載の方法。

57. 前記光はコヒーレントであることを特徴とする、請求項51から請求項55のいずれかに記載の方法。

58. 前記光は前記表面から全内反射されることを特徴とする、請求項51から請求項57のいずれかに記載の方法。

59. 前記光は、プリズム(P<sub>r</sub>)または格子により前記表面(SS)に連結されることを特徴とする、請求項58に記載の方法。

60. 反射対角度および/または波長の前記判定は、減衰波検知に基づくことを特徴とする、請求項58または請求項59に記載の方法。

61. 反射対角度および/または波長の前記判定は、表面プラズモン共鳴、ブリュースター角度、偏光測定、臨界角度、または漏れ全内反射導波路共鳴に基づいていることを特徴とする、請求項60に記載の方法。

62. 前記光は前記表面から外反射されることを特徴とする、請求項51から請求項57のいずれかに記載の方法。

63. 反射対角度および/または波長の前記判定は、外ブリュースター角度または外偏光測定に基づいていることを特徴とする、請求項62に記載の方法。

64. 前記表面(SS)は、多数のサブゾーンを有する化学または生化学センサー表面であり、各サブゾーンは特定分析物種と相互作用可能な反応物を支持し、前記表面は、1つ以上の該特定分析物種を含有すると推定されるサンプルと接触状態になり、該サンプル中にそれらが存在することを判定することを特徴とする、請求項51から請求項63のいずれかに記載の方法。

65. 前記入射光の前記入射角度および/または波長を判定するために使用される前記光は、とりわけ、前記サンプルによっては接触されない前記表面の一部において、前記薄層構造を提示しない前記表面の一部で反射されることを特徴とす

る、請求項51から請求項64のいずれかに記載の方法。

66. 前記方法は、前記表面上のの前記厚さ画像に基づいて、対応する表面濃度、表面濃度変化、表面屈折率、表面屈折率変化、表面厚さ、および表面厚さ変化のうちの少なくとも1つを判定する工程を包含することを特徴とする、請求項51から請求項65のうちのいずれかに記載の方法。

67. 光学厚さ画像の前記判定工程は、

a) 前記第1検出器上の画素、または画素のクラスターを規定する工程であって、各画素または画素の各クラスターが前記表面上の多数の異なるゾーンのそれぞれのものに対応する、工程と、

b) 前記薄層構造の無い異なるゾーンから得られた反射率データを規格化および記憶し、データが全ての入射光角度および/または波長について同一となるようにする工程と、

c) 好適な数の角度および/または波長走査の間は、所定の期間にわたり、前記ゾーンに対応する前記画素の素子により検出される生データ画像をメモリに記憶させる工程と、

d) 前記表面上の一定反射率ゾーンおよび時間に対応して、前記第2検出器の1つまたは複数の画素列により検出された角度データおよび/または波長データをメモリに同時に記憶させる工程と、

e) 時間の関数として、モニターされた入射角度および/または波長を算出する工程と、

f) 算出された角度、時間、および/または波長に基づいて、生データ画像をメモリに記憶させる工程と、

g) 工程b)において画像規格化データを使用することにより、各記憶された生データについて、規格化された画像を算出する工程と、

h) 規格化された画像についての算出された角度、時間、および/または波長をメモリに記憶させる工程と、

i) 各ゾーンごとに、該規格化された画像メモリにおいて、規格化された反射率/角度/波長/時間についての対応データを反射率曲線対角度に変換し、各角度は走査範囲内の特定時間に対応し、かつ/または、反射率曲線対波長に翻訳

し、各波長は走査範囲内の特定時間に対応する、工程と、

j) 各ゾーンごとに、該メモリにおいて、各走査ごとの最小反射率、最大反射率、および／または反射率曲線についての重心、ならびに中間時間において、角度および／または波長を算出する工程と、

k) 各ゾーンについて、該メモリにおいて、走査に対する角度シフトおよび／または波長シフト対中間時間を算出する工程と、

l) 各ゾーンごとに、該角度シフトおよび／または波長シフトから、表面濃度の変化、屈折率、または厚さを算出する工程と、

m) 選択されたゾーンについて、表面濃度、屈折率、または厚さの同時の内的および／または相対的变化を、グラフまたは表として提示する工程とを包含することを特徴とする、請求項51から請求項66のいずれかに記載の方法。

68. 前記規格化は、

a) 前記第1検出器マトリクス上の画素または画素のクラスタを規定し、各画素または画素のクラスタは、前記表面上の多数の異なるゾーンのそれぞれのものに対応する、工程と、

b) 前記ゾーン／画素または画素クラスタから、基準ゾーンとして使用されるべきゾーン／画素クラスタを規定する工程と、

c) 検出された集光強度曲線の位置と、わかっている入射角度および／または波長との間の関係を算出することにより、該角度および／または波長測定を校正する工程と、

d) 好適な数の角度および／または波長走査の間に、各ゾーンに対応して前記画素または画素クラスタにより検出された前記生データ画像を、メモリに記憶させる工程と、

e) 所定の数の角度および／または波長走査中に、前記一定反射率ゾーンに対応して前記1つまたは複数の画素列により検出された角度データおよび／または波長データを、時間の関数として第2のコンピュータメモリに記憶させる工程と、

f) モニターされた入射の角度および／または波長を、時間の関数として算出する工程と、

g) 関連する算出角度および／または波長、時間、ならびに生データ画像をメモリに記憶させる工程と、

h) 前記ゾーンの全てで全内反射を可能にする屈折率を有する媒体と、前記表面を接触させる工程と、

i) 前記生データ画像メモリに記憶された各生データ画像について、反射率規格化データマトリックスを算出する工程と、

j) 算出角度および／または波長、時間、ならびに画像規格化データを、メモリに記憶させる工程とを包含することを特徴とする、請求項67に記載の方法。

69. 前記方法は、

前記検出器マトリクス上の前記画素のクラスタを選択し、各クラスタは前記表面上のそれぞれのゾーンの位置に対応し、更に、少なくとも1つの画素列は前記表面上の一定反射率ゾーンの位置に対応するようにする、工程と、

特定の中心画素を画像化されたゾーンの各々に割り当て、およびこの中心画素付近の近隣画素のクラスタを、センサーゾーンの画像の寸法の少なくとも1つ、該ゾーンの画像の形状、前記検出器マトリクスの画素の寸法、近隣画素についての反射率の検出された差、異なる数の画素およびクラスタ内の画素パターンの形状について、電子光感度およびノイズの差、および、画素の電子平均応答の統合時間として割り当てる工程とを含むことを特徴とする、請求項67または請求項68に記載の方法。

70. 前記画像化表面ゾーンの各々と一定反射率ゾーンとに対応する前記特定の中心画素の前記割り当てがマニュアルで実施され、および、

ゾーンパターンを規定することにより、符合するデフォルト中心画素パターンの自動生成と、前記それぞれのゾーンの画像に対する、この生成されたデフォルト画素パターンの位置符合およびロック工程とを開始させる工程と、

前記入射角度および波長の少なくとも一方の走査中に、該画素パターンと前記表面ゾーンの画像とをスクリーン上で視覚化する工程とを更に包含することを特徴とする、請求項69に記載の方法。

71. 各画像化された表面ゾーンに対応する前記特定の中心画素と、前記特定の1つまたは複数の画素列とを、前記一定反射率ゾーンに割り当てる前記処理が、

自動的に実施され、前記方法は、

表面ゾーンパターンを規定することにより、一致するデフォルト中心画素パターンの自動生成を開始させる工程と、

画像分析を実施して、前記画像内の前記表面ゾーンの位置および境界を判定する工程と、

前記表面ゾーンの前記判定された画像に対し、前記生成されたデフォルト画素パターンを位置符合およびロックする工程と、

前記入射角度および波長のうちの少なくとも一方の走査中に、前記画素パターンと前記表面ゾーンの画像とをスクリーン上で視覚化する工程とを更に含むことを特徴とする、請求項69または請求項70に記載の方法。

72. 角度および／または波長をモニターするための前記光は、少なくとも1つの覆いにおける少なくとも1つの開口を通過することを特徴とする、請求項51から請求項66のいずれかに記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 分析方法および分析装置

## 技術分野

本発明は、センサー表面上のサンプル領域の光学表面分析方法およびその装置に関するものである。

## 発明の背景

表面高感度測定技術に対する関心は近年著しく増大しているが、それと共に、分子相互作用を同定および定量化するいくつかの光学技術が開発されており、同技術はラベル処理を必要としない。これまでに最も頻繁に使用された光学技術は、表面プラズモン共鳴に基づいており、これは、以下にSPR (surface plasmon resonance) として頻繁に言及される。

表面プラズモン共鳴すなわちSPRという現象は周知である。簡単に説明すると、SPRは、例えばガラスのような光学的に透明な材料と、通常は銀または金である薄い金属膜との間の界面から特定の角度（例えば光検出器により測定されるような）で反射された特定波長についての光強度の低下 (dip) として観測され、とりわけ、金属表面に近接した媒体（例えばサンプル溶液など）の屈折率によって決まる。金属表面の複素屈折率の実部分の、そこへの材料の吸収または結着による変化は、SPRが起こる角度、いわゆるSPR角度の対応シフトを引き起こす。特定入射角度について、SPRは特定波長の光強度の低下として観測され、屈折率の実部分の変化は、SPRが起こる波長の対応変化を引き起こす。

SPRが生じるように界面に光を連結するには、3つの代替の配置が使用され得、すなわち、金属化回折格子(a metallized diffraction grating) (1982年AmsterdamのNorth Holland Publ. Comp.刊、AgranovichおよびMills共編、"Surface Polaritons"におけるH. Raetherを参照のこと)、金属化ガラスプリズム（クレッチマン配置）、または、ガラス基板上の金属化表面と近接接触したプリズム（オットー配置）のいずれかである。SPRに基づくアッセイでは、例えば、リ

ガンドは金属表面に結着され、この検知表面の、同表面と接触する溶液の分析物との相互作用がモニターされる。

元来、平行光(collimated light)はSPR角度を測定するために使用され、検知領域は、平行光と金属表面との交差部分に制約されていた。使用された装置は、2つの可動機械軸が照射コンポーネントと検出コンポーネントとを有する、機械的測角法に基づいており、その回転中心はセンサー領域の中心、すなわち、入射光のための一つの軸と、単一検出器により検出された反射光のための別な軸とに置かれた。全内反射条件の平面側部連結プリズムは、プリズムの内側で平行ビームを保存するために使用されたが、これは、プリズムでの非垂直入射で屈折を導入し、それにより、金属表面でビームウォークを導入する。光の軸の垂直入射を伴う半円筒型連結レンズは、固定センサー領域を与えたが、プリズムの内側で、ビーム収束、すなわち、非平行ビームまたは準平行ビームを導入した。

開発に際して、照射側の可動光学機械軸は、KretschmannによりOptics Comm. 26号(1978年)41頁-44頁に記述されているように、集光された入射ビーム、すなわち、いわゆる集光された減衰全反射(focused ATR)を利用することにより、除去され、全角度範囲は、所与の検知表面の集光線または焦点を同時に照射した。反射光を検出するための検出器マトリクスの使用は、反射側でも可動光学機械軸を取り除き、先行技術のSPR検出よりも高速のSPR検出を提供した。かかるシステムは、例えば、EP-A-305 109およびWO 90/05295に記述される。後者の文献では、センサー領域の特定サブゾーンから反射された光ビームは、歪んで(anamorphically)像をつくり、一平面(サジタル平面(sagittal plane))におけるビームはマトリクス検出器の特定検出器画素列上に実像を作り、局地表面結着反応の発生が確認されるのを可能にする一方で、同一画素列に沿って測定される反射曲線について、角度データを介して反応の定量化が獲得されるが、その場合、反射曲線は、最初に言及された平面に垂直な平面(メリディアン平面(meridian plane))においてビームによって作られる。従って、マトリクス検出器の一次元は、もう一方の次元が角度測定のみについて使用されるのと同時に、実像化のために使用される。これは、一列に配置されるサブゾーンのみが同時にモニターおよび画像化される(imaged)のを可能にする。

測角法の変形例において、嵩ばる機械軸は、それぞれ、回転または振動ミラー

により、置換された。しかしながら、そのアプローチの不利な点は、平面ミラーにより入射角度を走査する時に、光ビームがセンサー表面に当たる点は、プリズムの内反射表面に沿って移動することである。この問題は、Oda, K.によりOptics Comm. 59号 (1986年) 361頁で記述されるように、回転ミラーと集光されたSPRの組み合わせを採用することにより、回避された。この構成では、約1mmの直径の第1平行ビームは集光レンズの焦点距離に設置された回転ミラーの回転中心に衝突し、従って、第2の準平行ビームを生成するが、この光学軸までの距離は、ミラーの反射角度によって決まる。第2平行ビームは、全内反射条件で、プリズムベース上への第2集光レンズにより集光される。ミラーの回転中は、略固定センサー領域への入射角度が準平行ビームに対して走査される。

固定され、また拡大されたサンプルスポットを獲得するための別なアプローチは、Lenferinkらにより "An Improved optical method for surface plasmon of a collimated experiments" Vol. B3 (1991年) 261頁-265頁により提案される。この技術は、平面回転ミラーを照射する平行光ビーム、ミラーの後の集光円筒型(凹)レンズ、および検知表面への光の連結のための半円筒型レンズの組み合わせを利用する。円筒型レンズに連結する半円筒型の焦点表面上へ光を集光させることにより、比較的複雑なレンズシステムを利用して、平行ビームは連結プリズムの内側で得られる。

SPRに類似する他の光学技術は、ブリュースター角度反射法(BAR)および臨界角度反射法(CAR)である。

2つの異なる透明な誘電媒体の間の境界で、より高い屈折率媒体からより低い屈折率媒体まで光が入射する場合、内反射は、s偏光成分とp偏光成分の両方についての入射角度と共に変化する。反射したs偏光成分は入射角度とともに増大し、p偏光成分は特定角度すなわちブリュースター角度で最小反射を示す。s偏向光とp偏向光の両方が全内反射される角度は、臨界角度として規定される。臨界角度より大きい全ての入射角度に対して、全内反射(TIR)が起こる。

SchaafrらはLangmuirのvol. 3 (1987年) で、シリカ/溶液の界面で蛋白質(纖維素原)を研究するために、内ブリュースター角度近辺の走査角度反射法におい



てマイクロ制御型回転テーブルと可動検出器とを利用したプリュースター角度反射法を記述している。可動光学機械軸および回転テーブルの使用は低速測定手順をもたらし、センサー領域は、非ビームウォーキングの必要によりセンサー表面が限定されると共に、平行光ビームの断面に制約される。

測定されるべき臨界角度間隔を含む測定線に当たる入射光のウェッジ(wedge)に基づき、かつ、液体容器のガラス壁に直接隣接する集光線に沿った一次元屈折率プロファイルを測定する、集光臨界角度屈折計は、Beach, K. W.らにより、"A one-dimensional focusing critical angle refractometer for mass transfer studies" Rev. Sci. Instrum, vol. 43 (1972年) において記述される。この技術は、それが一次元センサー領域のみを可能とするという点で、制限を受け、これはセンサー領域に関して光線の断面に制約される。

反射率測定のための上述の先行技術の方法においては、得られる反射率信号は、センサー表面についての平均値を表し、センサー表面の寸法は、平行または準平行にされた狭いビームの延長部分、または焦点もしくは集光線に制約または最小限に抑制される。それゆえ例えば、とりわけ蛋白相互作用は、特定の相互作用が起こる表面上の1スポットまたは1列のスポットに局在化される検知領域についての定量情報に限定される。二次元相互作用パターンをモニターするためのアプローチは、検知表面の肉眼および顕微鏡SPRに基づいた画像化の両方について行われた。

従って、EP-A-341 928は、大領域にわたり検知表面を連続的に測定する処理として、例えば $10\mu\text{m}$ の、わずかな集光されたビームを走査することにより、実時間で大きなSPRセンサー領域をモニターするための方法、より特定すると、例えば $20\times 20$ 平方センチメートルのDNA配列決定ゲルをモニターすることにより、光検出器配列による配列決定法ゲル内部のサンプル分布の画像または写真を構築することを可能にする方法を開示する。しかし、この方法は、センサーゾーンのアドレス化と角度走査の両方のための走査ミラー、およびミラーレスキャナおよび光検出器からの角度データおよび位置データを処理する、複雑かつ高額な処理(これは検出率に制限を加える。)の利用を必要とする。

YeatmanおよびAshは、Electronic Letters 23号(1987年) 1091頁-1092頁お

よびSPIE 897号(1988年)100頁-107頁で、検知表面の顕微鏡(microscopic)実画像化処理、いわゆる表面プラズモン顕微鏡測定法すなわちSPM(surface plasmon microscopy)を開示している。これは、センサー表面に沿って走査された線の形態で集光されたビームを利用して、約 $25\mu\text{m}$ の横方向分解能で銀薄膜上に積層された誘電体パターンを画像化するための三角柱プリズムを備えたクレッチマン構成において、SPRの使用により達成された。より大きな領域を照射し、かつ、光検出器の前面で正レンズによりかかる画像の写真を作成するために、共振角度で拡張されたレーザービーム(expanded laser beam)を利用することも、開示される。照射ビームは平行化され、入射角度は、三角柱プリズムを回転させることにより、調節される。この方法は、金属薄膜、生物学的単層または他の重量した単層の検査用に使用されるよう、提案されている。

平行ビームおよび、反射ビームに挿入されるレンズを用いて、プリズムベースでサンプル分布の画像を生成するためのかかるSPMのための画像処理方法は、YeatmanおよびAshにより、「コンピュータ化表面プラズモン顕微鏡測定法」SPIE, Vol. 1028 (1988年) 231頁において論じられる。

OkamotoおよびYamaguchiはSPIE, vol. 1319 (1990年) 472頁-473頁にあるように平行ビームの位置が、または、Optics Communications 93 (1992年) 265頁-270頁にあるように集光されたビームの位置がクレッチマン構成でサンプル表面にわたって走査されることにより、アセンブルされたポイントSPRデータが画像を生成する、SPR顕微鏡を記述している。集光されたビームの代替例においては、線形発光ダイオード配列は、先にクレッチマンにより以前に記述されたような集光型ATRの原理に従って、SPR角度の検出のために使用される。

機械的走査式SPRサンプリング処理に関する欠点としては、「実時間モニター処理」用の高水平方向分解能および高速度が、複雑かつ高額な走査機構(照射装置および検出装置が嵩高いために)を必要とする点が挙げられる。

EP-A-469377は、表面プラズモン画像化に基づいた液状サンプルにおける分析物の判定のための分析システムおよびその方法を記載する。入射角度の関数としての表面プラズモン画像は、CCDカメラによりモニターされ、かつ、画像ソフ

トウエアにより分析される。不特定結着処理から寄与を取りのぞき、かつ、反応

曲線を較正するために、センサー表面の異なる領域について測定されたSPR角度を比較するためのアルゴリズムが使用される。

RothenhauslerおよびKnollは、Nature 332号(1988年)615頁-617頁で、クレッチマン構成におけるSPRに基づく、有機被膜(多層カドミウムアラキデート: a multilayer cadmium arachidate)上の表面プラズモン顕微鏡測定法を実証している。サンプル/金属の界面の画像を形成するために、単一のレンズが使用される。平行ビーム(平面波)照射および可動の嵩高い光学機械軸が使用されて、入射角度を変化させる。

SPM用の上記先行技術の配置においては、入射角度は、固定プリズムに関して一方または両方の光学機械軸が移動させられる(走査される)形態か、または、回転プリズムと組み合わせて可動光学機械軸を使用する形態のいずれかの測角法の使用により変化させられ、この場合、共通の回転ポイントはプリズムセンサー表面の中心にあり、共通の回転ポイントはプリズムセンサー表面の中心にあり、入射角度は機械手段、電子手段、電磁手段、または光学手段を介した機械軸の位置または回転の変化に由来する。照射モジュール、画像化モジュール、および検出器モジュールを有する機械軸の回転に基づく入射角度のかかる変動は、複雑かつ高額な設計が供されていなければ、幾分ゆっくりで不正確であることが、容易に理解される。

別なアプローチは、すなわち入射角度を調節するために、クレッチマン構成と組み合わせが小型の振動ミラーを利用したSPMであり、KooymanおよびKruhlにより、Langmuir 7号(1991年)1506頁-1504頁に開示される。しかし、欠点としては、嵩高い光学機器が過度に検知領域をカバーしていない限り、検査スポット(probed spot)は角度走査中は静止状態には無く、すなわち、検知領域内の全ての場所が均等な入射角度範囲で光により検査されるわけではない点である。

ブリュースター角度測定に基づく顕微鏡測定法も記述されてきた。HenonおよびMeunierは、Rev. Sci. Instrum, vol. 62(1978年)936頁-939頁で、単層における第1位(first order)相転移の直接観察のために、ブリュースター角度で

顕微鏡を使用することを開示している。この場合、外部ブリュースター角度が測定され、すなわち、内反射および連結プリズムは存在せず、カメラ平面はセンサー表面と平行である。

同様に、HoenigおよびMobius, J. Phys. & Chem., Vol 95 (1991年) 4590頁—4592頁で、空気—水界面を研究するための、ブリュースター角度顕微鏡測定法を記述している。約3  $\mu$ m直径の物体は、清浄水表面について、固定ブリュースター角度のもとで反射されたp偏光のビデオ録画により視覚化され得る。

顕微鏡測定画像化偏光法は、Beaglehole, D.により、Rev. Sci. Instrum 59号(12) (1988年) 2557頁—2559頁に記述されている。

入射角度の変化のための回転光学手段および回転プリズムを使用する形態の多角度減衰波偏光法と、位相変調偏光法とは、プリズム／液体の界面の付近のポリマー（ポリスチレン）濃度プロファイルを研究するために利用されてきており、これについては、Kim, M.W.著のMacromolecules 22巻 (1989年) 2682頁—2685頁を参照されたい。更に、単一入射角度での静止光学手段の形態の全内反射偏光法は、免疫学的反応の定量化を目的として提案されており、EP-A1-0 067 921 (1981年) およびEP-A1-0 278 577 (1988年) を参照されたい。

Azzam, R.M.A.は、Surface Science 56号 (1976年) 126頁—133頁、減衰波偏光法の使用を記述しており、ここでは、反射ビームの強度と偏光楕円(polarization ellipse)の両方が、入射角度、波長、または時間の関数としてモニターされ得る。安定状態条件下では、波長と入射角度との関数としての測定値は、(生物学的)セル周辺部の分子組成および編成に関する基本情報を提供し得る。動的経時変化状況については、時間の関数としての測定値は、或る表面変化の運動力学を解析可能にする。

Abeles, F.らは、PolaritonsというE. BursteinおよびF. De Martiniを編者とするPergamon Press, Inc.社 (New York) の1974年刊の文献の241頁—246頁で、極度に高感度の表面プラズモンがいかに極度に表面の微細な修正に対して敏感であるかを示すと共に、反射波の反射振幅のみならず偏光パラメータ、振幅および位相を測定する利点を示している。

質量移動(mass transfer)研究のためのグラフィック画像で表示される一次元屈折率プロファイルを測定するための、集光臨界角度屈折計は、Beach, K.W.により、The Review of Scientific Instruments 43巻6号(1972年)925頁-928

頁に記述されている。しかしながら、この装置は実像用の画像平面の一次元と、反射対入射角度を投影するためのもう一方の次元を利用するので、屈折率分布の二次元画像を提供することは不可能であった。

上述の先行技術の顕微鏡測定法システムは、センサー表面の高度に定量的複数場所実時間モニターを可能にする程十分には迅速、高感度、かつ正確な走査および入射角度の測定を可能としない。更に、これらは、約 $1 \times 1$ 平方ミリメートルまでの限定されたセンサー面積の画像化についてのみ好適である。これらはまた、あまりに実験的かつオペレータ依存的で、市販分析機器としては使用できない。

より特定すると、SPR顕微鏡測定法およびブリュースター角度顕微鏡測定法のための先行技術の装置およびシステムは、照射側と画像化側について的一方または両方の機械軸がそれぞれ、固定プリズムに関して回転させられる測角計の形態の高慣性スキャナ、または、光学軸、すなわち入射角度を走査するための回転プリズムと組合わせた可動機械軸のいずれかを使用する。照射が平行光ビームから成る場合、入射角度は、例えば、ミラーのローター駆動モータへの制御信号に関して、入射光を使用せずに角度操作(steering)信号について直接的に、または、回転軸上にまたはそこに設置された電子角度センサーまたは光学電子角度センサーにより、測定される。代替案として、検流用または共鳴式低慣性スキャナを使用して振動ミラーを駆動し、光の実際の入射角度をモニターすることなく、所与の駆動電流により判定される所与の較正された角度範囲内で振動させるようにする。

長期間高精度市販分析機器についての上述の先行技術に従って構成される装置を用いて、センサー表面の屈折率を判定する必要な高屈折計感度は、よって、極めて複雑かつ高額な設計を用いてのみ達成される。

発明の要旨

本発明の目的は、上記欠点を克服し、高空間分解能で高屈折計感度および精度で、センサーチップまたはプレートの検知表面の大領域分析およびその顕微鏡測定法分析を可能にする光学方法および装置を提供することである。

本発明によれば、上記目的は、上述のタイプの大領域分析装置または顕微鏡測定法分析装置において達成されおおよび、センサーチップを照射して、光の瞬間的入射角度または波長をモニターおおよび判定する、角度走査光または波長走査光の一部を利用することによる、他の方法おおよび装置においても達成される。

以下に更に説明されるように、これにより、表面分布式反応場所のようなセンサー表面上の表面構造で、最小反射率のような局地反射曲線パラメータに対応する入射角度（代替例としては波長）の判定に際して、向上した定量測定厳正度、精度、おおよび速度が可能となる。

一局面では、本発明は、表面上の薄層構造を検査して、光学厚さの点で差異を求める方法を提供し、この方法は、

光が表面で内反射または外反射されるように、光で表面を照射する工程と、

二次元式第1光検出器上で反射光を画像化させる工程と、

角度範囲おおよび／または波長範囲にわたり、光の入射角度おおよび／または波長を経時的または連続的に走査する工程と、

同表面の異なる部分から反射された光の強度を測定し、かつ、少なくとも多数の入射角度おおよび／または波長で、検出器の異なる部分に衝突させる工程であって、角度おおよび／または波長についての同表面の各部から反射された光の強度が、その上の薄層構造の光学厚さで決まる、工程と、

異なる光入射角度おおよび／または波長の各々について検出された光強度から、同表面上の薄層構造の光学厚さ画像を判定する工程とを含み、

同方法は、表面で反射された光の一部が第2光検出器上で検出され、同表面を照射する偏向光の入射角度または波長をモニターすることを特徴とする。

別な局面では、本発明は、表面上の薄層構造を検査し、光学厚さの点で差異を求める装置を提供し、同装置は、

特にサンプルとの接触の結果として、変化する光学厚さの薄層構造を提示可能

な多数のゾーンを備えた検知表面を有するセンサーユニットと、

光ビームを発する光源と、

光ビームをセンサーユニットに連結する光学手段と、

第1光検出器手段と、

或る範囲の入射角度および／または波長にわたって、センサー表面への光入射

を経時的または連続的に走査する手段と、

同センサー表面の異なる部分から、反射光の強度を検出するための光検出器手段へと反射される光を画像化する手段と、

同センサー表面に衝突する光の角度および／または波長の各々を判定する手段と、

反射光の検出強度と入射光角度および／または波長との間の関係から、同検知表面の各ゾーンの光学厚さを判定することにより、センサー表面の光学厚さの形態測定画像を生成およびモニターする評価手段とを備え、

同装置は、第2光検出器を備えること、および、光角度および／または波長を判定する手段が、検知表面で同第2光検出器手段へと反射される光の一部を集光する手段を備え、同第2光検出器手段で集光された光の各位置が、検知表面での光入射の特定角度および／または波長に関連することを特徴とする。

本明細書中で使用されるような用語「光学厚さ」とは、材料の物理的厚さとその屈折率の両方の関数である、材料の複合光学特性であると、定義する。

本明細書中で使用されるような用語「表面構造」とは、センサー表面上の薄層型または他のタイプの化学構造、物理構造、生物物理構造、および／または生化学構造、とりわけ、センサー表面上の不動種との化学相互作用または生化学相互作用により生成される構造を、意味する。

本発明に従って、センサー表面の一連の画像が、各特定入射角または波長について1画像ずつ、作成される。画像化検出器の一部、または別個の検出器が、入射角または波長を測定するために使用される。これは、以下に更により詳細に解説される。

光検出器に当たる前に、光は偏光されるのが通常である。これは、偏向光を発

する光源を利用することにより、または、光源と検出器との間に偏光器を設置することにより、達成され得る。

本発明の1つの基本的な実施態様においては、単色角度走査光が使用され、反射された平行ビームの主要な第1部分は、マトリクス光検出器の第1主要領域上に実像を生成するために使用される一方で、反射された平行ビームの第2部分は、マトリクス光検出器の第2特定マイナー (minor) 線形領域上で、鮮明な線に集

光される。平行ビームの角度走査中は、入射角度の変化は、強度曲線分析アルゴリズムの採用により、線形検出器領域に沿って検出器要素により検出される、集光された光の強度の最大値または重心のいずれかの位置の変化により、判定される。

本発明の別な基本実施態様において、固定入射角度で走査された単色光が使用され、反射された固定平行ビームの第2部分は波長分散要素を通り、次いで、上記マトリクス検出器の第2特定マイナー線形領域上の鮮明な点または線へと集光される。ビームの波長走査中は、波長の変化は、強度曲線分析アルゴリズムの使用により、線形検出器領域に沿って検出器素子により検出される、集光された光強度の最大値または重心のいずれかの位置の変化により、判定される。

好ましい実施態様においては、本発明は、新規な光学設計の使用により、表面プラズモン共鳴 (SPR) のような全内反射、または、外部ブリュースター角度分光器または偏光器のような外反射に基づく画像化方法について、向上した反射率測定性能を提供し、この設計は以下に更に解説されるが、同一マトリクス光検出器配列上の入射角度測定用および波長測定用の光線の同時センサーゾーン解像度および投影を可能にする2焦点画像化システムと、全内反射素子または格子と組み合わせて、減衰波をセンサー表面に結ぶための、センサーチップの主要静止照射領域用の低慣性ミラースキャナーシステムとを備える。

より特定すると、かかる装置は、サジタル平面とメリディアン平面の支配的部分とについての同一焦点距離と共に、投影の同一平面 (メリディアン平面) において2つの異なる焦点距離を有する画像化システムと、画像および角度モニター



処理用の共通光検出器マトリクス配列とを備える。好ましくは、検出器配列の主要部は、画像化システムの実像平面にあり、一方で、検出器マトリクス配列のマイナー部分は、画像化システムの背面集光面にある。実像平面内の検出器素子は、顕微鏡横方向解像度で特定局地スポットから始まる光強度をモニターするが、背面集光面内の他の検出器素子は、集光された線の位置、すなわち入射角度を検出する。

代替の形態において、2焦点画像化処理により、実像平面内の検出器素子は顕微鏡横方向解像度で特定局地スポットから始まる光強度をモニターすることが可

能となるが、背面集光面内の他の検出器素子は、波長に対応する集光線の位置を検出する。

反射光強度は、主として角度依存反射係数のせいで、入射角度と共に変化するが、照射ビーム全般で光強度が一定でない場合は、照射領域の移動のために、また変化し得る。略静止照射センサー領域を画像強度規格化アルゴリズムと共に使用することにより、局地反射曲線の高解像光強度が検出され得て、これにより、対応する反射率の最小値もしくは最大値または重心で、判定された角度／波長についての高解像度を可能にする。

画像検出と角度または波長検出との両方について同一検出器配列コンポーネントが使用されることが好ましいが、別個の検出器も、もちろん、使用されてもよい。

光の入射角度と波長の両方が測定されねばならない場合は、検出器は2つの（小さい）部分と1つの大きな部分とに分割され得、この場合、小さい部分のうちの一方は、入射角度の検出用に使用され、他方の小さい部分は、波長の検出用に使用され、そして、大きい検出器部分は、画像化処理用に使用される。

上述のように、本発明は、画像と入射光角度および／または波長との両方の完全検出を行い、先行技術において獲得されたものよりも良好な複数ゾーン反射率測定精度および感度と、より高速の分析手順を得ることを、特徴とする。従って、本発明によれば、同一平行光が使用される目的として、以下の事由が列挙される、すなわち、(i)入射光の実際的同一角度でセンサー表面上の各点を照射し、

大規模な角度／屈折率測定ダイナミックレンジ用の全センサー領域内で最小の偏向 ( $0.002^\circ$  の最大偏向) を可能にするため、そして、(ii)  $0.0001^\circ$  のオーダーの解像度で各ゾーンについてこの角度の変化を測定するため。

従って、(i)例えば複ゾーンセンサー表面の高解像画像用検出器と、(ii)入射光の角度および／または波長のそれぞれのための検出器とを、構造に組み込むことにより、角度と波長の測定それぞれについての、また、光検出器マトリクス上での特定センサーサブゾーン発現に対するそれらの関係の測定についての誤差の原因をそれぞれ減じることにより、以下の利点が先行技術装置構築に関連して獲得され得る。

- 絶対的および相対的反射最小角度のより高い解像度、
- 絶対的および相対的反射最小波長のより高い解像度、
- より高い画像コントラストおよび画像コントラストの解像度、
- 反射画像データ検出用のより高い周波数、
- より高い光学機械的強度 (より低い磨損性、より低い維持費)
- 向上した (より廉価でより迅速な) サーモスタットを可能にし、よって、向上した測定システム性能を可能にする、光学機械装置用のより小さい総体積、が挙げられる。

本発明に従った装置は、先行技術の記載について上述の原理を含め、当業者には公知の、平行ビームの入射角度の走査のための多数の光学原理のいずれを利用してもよいが、但し、主として静止した領域の検査中に、クレッチマンプリズム構成またはオットープリズム構成か、格子連結構成のいずれかにおいて、全内反射条件でセンサー表面に入射する角度走査平行ビームを、選択されたビーム偏向原理が提供することを条件とする。

具体的なかかる走査原理には、ミラーまたは反射屈折格子による反射ビーム操作と、屈折スキャナーによる、もしくは、透過屈折格子または非常駐格子による透過ビーム操作 (音響光学走査) とがある。これらビーム操作原理は、当業者に公知の適切なスキャナー構成に組み合わせられ得る。

同様に、反射対入射の角度および／または波長の判定用の光学システム原理は

、先行技術の記載において上述のものを含め、当業者に公知の多数の光学原理から選択され得る。模範的なかかる光学原理は、表面プラズモン共鳴（SPR）、ブリュースター角度（内反射と外反射の両方について）、偏光角度（内反射と外反射の両方について）、臨界角度、および、漏れ（frustrated）全反射導波路共鳴である。

検知ゾーンとのサンプル相互作用を吸収する減衰波の事例についても、複素屈折率の変化は、SPR角度またはSPR波長のシフト（複素屈折率の変更された実部分に関連する）に対応するばかりでなく、共鳴の強度の深さのシフトにも対応する。

吸収に関するセンサー応用例にとって、本発明に従った装置は、反射吸収画像処理のために作動し得る。

コヒーレントである入射光の事例において、光学厚さまたは屈折率に関して空間的に異質な検知表面は、減衰波の相対位相を変調し、獲得された画像または実像で静止干渉パターンを生じる。入射光は全内反射後に、例えば、基板上のセンサー表面基板界面とは反対側で、センサーユニットの別な界面で部分反射された光に干渉することがある。例えば、サンプル分子がこの検知表面内の或る領域に特異的に結着された場合は、干渉縞は新たな位置に移動する。入射の走査角度または走査波長に関して画像処理ソフトウェアを使用することにより特定縞の位置をトラッキングすることにより、局地表面濃度変化は、本発明に従った装置により、干渉測定的にモニターされ得る。位相感応性減衰波検出の干渉測定特性は、例えば、干渉測定表面プラズモン共鳴画像分析、または干渉測定ブリュースター角度分析および臨界角度画像分析において屈折率測定感度を増大させ得る。

一般に、本発明は、検知表面の偏向光反射を瞬間的に検出することにより、略実時間で検知表面パターンの光学濃度測定（屈折率測定）定量化画像を生成する。検知表面の反射が好ましくは内的である場合、すなわち、光がより高い屈折率の誘電媒体からより低い屈折率の誘電媒体に入る場合、反射はまた外的であり得、すなわち、検査光はサンプル層のような層を透過し、外ブリュースター角度反射測定および外偏光測定のようなセンサー表面で検査される。

以下で、本発明は、本発明のいくつかの実施態様に関して、実施例としてのみによって、より詳細に記載される。添付の図面に対して参照がなされるが、この場合、図面全体で同一部分は、同一参照番号指定により表示される。

#### 図面の簡単な説明

図1は、本発明に従った光学センサー装置およびその光線経路の実施態様の概略メリディアン図であり、その実施態様は入射光の角度の走査処理に基づく。

図2は、図1に示された実施態様の別な平行概略メリディアン図である。

図3は、図1に示された実施態様の一部の概略拡大メリディアン図である。

図4は、図2に示された実施態様の一部の概略拡大メリディアン図である。

図5は、図2に示された実施態様の一部の概略拡大サジタル図である。

図6は、図5に示された実施態様の修正設計の概略サジタル図である。

図7は、図6に示された実施態様の概略メリディアン図である。

図8は、図3、図4、および図5に示された実施態様の概略斜視図である。

図9は、図6に示された実施態様の概略斜視図である。

図10は、図7に示された実施態様の修正設計の概略斜視図である。

図11は、本発明に従った光学センサー装置およびその光線経路の代替の実施態様の概略展開図であり、その実施態様は入射光の波長の走査処理に基づく。

図12は、図11に示される実施態様の修正版の一部の概略拡大メリディアン図である。

図13は、図12に示される実施態様の概略サジタル図である。

図14は、図12および図13に示される代替の実施態様の概略メリディアン図である。

図15は、図14に示される実施態様の概略サジタル図である。

図16は、偏光測定法に基づく、本発明の代替の実施態様の概略展開メリディアン図である。

図17は、図16に示される実施態様の別な平行概略メリディアン図である。

図18から図22は、本発明の装置において入射光の角度を走査するのに有用な先行技術の手段の概略図である。

図23は、図2に示される実施態様の修正設計の概略メリディアン図である。

図24aから図24dは、センサー表面のSPR画像である。

#### 発明の詳細な説明

上述のように、本発明は、化学センサー表面またはバイオセンサー表面の実時間モニター処理のような、センサー表面上の構造の大面积分析または顕微鏡分析のための光学的方法およびその装置に関連する。通常は、センサー表面は複数の個別のサブゾーンまたは領域を有するが、同ゾーンでは、異なる相互作用が起こり、かつ、サブゾーン間で異なる光学厚さの薄層構造を生成し得る。かかる「複数スポット」表面は、多様な分析目的で使用され得る。例えば、表面上の異なるリガンドを支持する表面は、同表面上のそれぞれのリガンドに結着可能な1つ以

上の種または分析物を含有し得るサンプルに左右され得る。それにより、サンプルは「1スポットで」いくつもの分析物の存在について分析され得る。他の例および用途は、当業者には容易に明白となる。

本発明によれば、問題のセンサー表面は照射を受けるが、照射は通常は主として一定照射される領域および領域位置に対し平行光で行われ、画像と入射角度の両方が、1波長よりも多く連続入射される代替形態においては波長も加えて、画像化処理のために使用されるものと同一またはそれと異なる多数チャネル光検出器またはマトリクス光検出器配列を使用することにより、同時にモニターされる。本発明の特徴的性質には、画像化の目的でセンサー領域を照射する角度走査光または波長走査光の（通常はマイナーの）部分が光の瞬間的入射角度または波長を測定するために使用される。そのようにして、瞬間的入射光角度または波長は、例えば表面結着相互作用が起こったまたは起こる表面サブゾーンの従来の定量化を可能にしながら、センサー表面の同時生成型瞬間画像と直接相関関係づけられ得る。

図1は、本発明に従った光学システムおよび光線経路の全内反射に基づく実施態様を概略的に示すが、これは、例示のみを目的として、例えば、US-A-5,313,264およびJonsson, U.らのBio Techniques 11巻620頁-627頁（1991年）に記載されたタイプのバイオセンサーであると想定される。

図1のシステムにおいては、光源LSはコリメータレンズCOを照射して平行光ビームを生成するが、同ビームは、単色ビームとして干渉フィルタIを通過し、そして、第1平坦スキャナーミラーSM1に当たって、第2走査ミラーSM2上へと偏向される。後者はビームを偏向させて光をセンサー表面SSへと連結する手段に入れる。例示の事例では、この連結手段はプリズムPrであるが、当該分野で周知のような格子であってもよい。

センサー表面は多様なセンサー表面（公知の、または将来公知となる）のうちのいずれであってもよく、また、その基本的な材料構造は使用される光学検出原理に大いに依存するが、これは通常は、規定されたサブゾーン上で不動である、例えば、抗体、抗原、核酸フラグメント、細胞、または細胞フラグメントなどのような異なる特定反応性リガンドを有する、外側反応性層を備える。SPR用の

典型的バイオセンサー素子はEP-A-442922に記載されているが、典型的な反応性バイオセンサー表面は、US-A-5,242,828およびUS-A-5,436,161に記載されている。後者は、デキシトランのようなヒドロゲル（金薄膜または銀薄膜に結着されるSPR用の）を備えるが、これは、サンプル分析物との反応のためにリガンドを支持するかまたはリガンドとの共有結合を可能にする。

センサー表面は生物物理反応に更に基づいていてもよく、この場合、特定のサンプル相互作用は、吸収を含め、センサー層の厚さ／屈折率分布の変化として表される構造的変化を生じる結果となる。かかる生物物理相互作用は、例えば、蛋白質結晶化反応、沈殿反応、凝集反応、または凝結反応により引き起こされる蛋白質凝集体の形成、つまり、生物学的細胞および細胞膜フラグメントのような膜複合体の付着である。センサー表面上の生物物理相互作用の検出に関する更なる詳細については、本件出願人の同時係属中の国際出願PCT/SE96/01074で言及されている。

センサー表面は図1のプリズムPr上に直接的に構築され得るが、先に言及したUS-A-5,313,264号に記載されたシステムは、プリズムとセンサー表面との間で光を連結するために、弾性光学界面（光学インターフェイス）を使用する。典型的な光学表面設計は、US-A-5,164,589号および本件出願人の同時係属中の国際出

願第PCT/SE96/01522号に記載されている。

センサー表面は、(例示の事例では)その上面でサンプル含有分析物をに曝されると想定される。サンプルは、例えば、上述のUS-A-5,313,264に記載されたような、フロータイプのセルにおけるサンプルと有効に接触され得、この場合、流体ブロックまたはカートリッジにおける1つ以上の開放チャネルに対してドッキングされたセンサー表面により、1つ以上のフローセルが規定される。

図1の光線経路を再び参照すると、ビームは連結プリズムのセンサー界面側で全内反射される。次に、ビームのp偏光成分が偏光器Pを通過し、ビームの主要第1部分は物体の第1主要部分に向けられるが、この物体の主要部分は球状物体SOから成り、センサー表面領域から反射された光強度のマトリクス検出器配列D上に実像を生成する。検出器配列Dは、センサー領域の実像が配列の第1矩形主要部D1上に生成されるように、配置される。つまり、物体の第1部分SOは

その実像平面を光検出器配列の平面に位置づけする。図1、図2、および図3は、検出器配列Dで、1'、2'、および3'とそれぞれ示される、センサー表面SS上の対応サブゾーンのそれぞれの画像を示す。

2つの走査ミラーSM1およびSM2は、プリズムPrのセンサー表面側上の入射角度の範囲内で角度走査平行ビーム入射を生成する、相対回転運動を行う。当業者により容易に認識されるように、照射領域の「ビームウォーク」は、ミラーとプリズムとの間の距離およびミラーの走査角度範囲の適切な選択により、低減され得る。

物体の上述の第1部分のみが図1に示されているけれども、その残余部すなわち第2部分は、図2に示されており、同図は図1におけるシステムに平行な光学バイオセンサーシステムのメリディアン図であり、上述の、2つの円筒型レンズCL1およびCL2と組合わさった球状物体SOから成る物体の第2のマイナー部分へと、ビームの第2マイナー部のための光線経路がどの様にして方向付けられているかを例示する。後者の組み合わせはこれら光線の投影を生成して、走査範囲内の角度で反射された平行ビームは、実像モニター用に使用される検出器領

域とは分離した検出器領域の第2の線形マイナー部D2上へと集光されるようになり、その結果、反射の各角度は、この検出器領域内の特定検出器位置に対応する。従って、物体の第2部分はその背面集光面が光検出器配列の平面に位置決めされる。検出器配列D2における文字a、b、およびcは、プリズムPrを出た、集光されたビームa'、b'、およびc'それぞれの背面集光面上の位置を示し、3つの異なる角度は、全センサー表面を連続的に照射し、そして入射光ビームの3つの異なる連続角度を表している。

上述のメリディアン2焦点画像化システム（実像をモニターするための1つの焦点距離と、入射角度をモニターするための別な焦点距離）は、センサー領域内の反応場所の位置（実像化）と、その場所で種（分析物）を反応させる量の定量測定的位置との両方の同時モニター処理を、同一検出器配列の使用により可能にする。

図1および図2において、傾斜検出器平面と傾斜連結プリズム出口（プリズムの出口における非直交光線通路）とは、当業者に公知の原理を示し、傾斜画像化

処理での画像の集光ずれを減じる。

先に既に言及したように、連結プリズムPrは、連結格子により置換され得る（例えば、WO 88/07202およびPCT/GB91/01573を参照されたい）。

同一検出器配列での、組み合わせ型画像および角度モニターのための連結プリズム、センサー表面、および2焦点画像化システムのより詳細な記載が、図3から図10に例示される。

図3（図1に対応する）は、1'、2'、および3'で示される、センサー表面の異なる点またはセンサーゾーン高さで反射された光線束のメリディアン断面を例示する。センサーゾーン高さ1'、2'、および3'は、検出器配列上の実像平面におけるメリジオナル高さ1、2、および3上で、球状物体SOにより鮮明に画像化される。球状物体SOのみを通過するこれら光線については、検出器平面は、レンズシステムの実像平面で位置決めされる。

図4（図2に対応する）は、センサー表面サジタル高さ0'（図5を参照のこと）における、異なる角度a'、b'、およびc'で反射された光線束のメリデ



ィアン断面を例示する。各特定角度で反射された光線は、組み合わせ型球状物体および円筒型要素により、検出器D 2上で、メリジオナル位置a、b、およびcにおける線になるまで鮮明に集光される。平行光の特定入射角度については、全ての光線は、角度モニター用と指定された検出器素子の列にわたり、線になるまで集光される。かかる列に沿って、この光強度ピークの位置を判定することにより、適切なアルゴリズムと角度較正手順を利用すれば、関連するセンサー表面の二次元画像についての入射角度の実時間測定が、高解像度、高精度、および高速で可能にされる。

選択された角度範囲に依存して、開口絞りA<sub>p</sub>が使用されて光線を選択し得、それにより、角度検出に必要な表面サジタル高さ0'に沿った長さを選択する。

平行ビームの一部に覆い(obscurator)を導入することにより、入射角度のモニターのために使用される光線の通過のための覆い部に、開口が形成され得るが、それにより、背面集光面のこれら光線の集光スポットまたは集光線の幅および長さは、光検出器の画素配列における画素サイズおよび画素分離サイズに関連して、または、スポット位置感応性大型領域センサーの場合は、その面積に関連して、

適切に調節され得る。このように、画素の数、すなわち、スポット強度ピーク幅により被覆される光検出器の面積は、高スポット位置解像度を提供するために最適化され得て、測定入射角度の高感度を可能にする。図2、図4、および図5に記載されるように、開口を通過するこの平行ビームは、0'で内反射され、レンズCL 1およびCL 2を通過し、0で検出器平面D 2に出会う。

覆いは、適切な光学機械特性が主として不透明な材料から作られ得る。覆いは、照射システムに、またはその内部に、もしくは、照射システムと第1走査コンポーネントとの間に位置決めされ得る。好ましい実施態様においては、同覆いは、図23に例示されるように、干渉フィルタIに設置される。

開口は覆われていない開放部であり、円、四分円、または矩形の形状を呈する。開口は、覆い部の端縁の内部かその端縁のいずれかに位置決めされ得る。

好ましい実施態様において、開口は、図23に示されるように、入射平面におい

て照射システムの中心と同心的であると共に、その中心は、照射システムに関して入射平面と直交する方向に偏心状態に置かれ、その結果、覆い部が、レンズシステムC Oを離れる平行ビームのマイナー領域を被覆し、覆い部の画像が共通光検出器領域の2%から10%を被覆する。

開口は、入射平面の方向に、0.05mmから1mmの範囲に入る典型的な幅を有するが、好ましい幅は0.2mmから0.5mmである。矩形スリットの形態を採る開口の場合、スリット長は0.5mmから3mmの範囲にあるのが典型的であり、好ましい長さは1mmから2mmである。

反射領域を限定するためのサジタル高さ0'でのセンサー表面の適切なマスク処理、および／または、センサー表面のサジタル高さ部分0'で常に全反射を付与する適切な構造は、角度測定のために使用される強度ピークの必要な安定性を獲得するために使用され得る。これは、例えば、反応ゾーンに加えて、入射角度および波長とは無関係に主として一定の反射を示す部分、従って、例えばSPRにおいては共鳴を生じない部分(0')を備えるセンサー表面により、達成され得る。

センサー表面の異なる部分で反射される光線束のサジタル断面は、図5に例示される。センサーゾーン高さ4'、5'、6'、および7'は、検出器平面Dで

サジタル高さ4、5、6、および7における球状物体により鮮明に画像化されるが、サジタル高さ0'で反射された光線もまた、2つの円筒型レンズ素子CL1およびCL2を通過し、これらは、サジタル位置0で検出器平面における光線の焦点を外れた交差を生成する。検出器ウインドーは、Wで表示される。

2つの円筒型レンズ素子は、サジタル平面において、適切な半径Rを有し得ると共に、検出器平面の前面に光線の画像平面を設置するために屈折を設けることにより、角度検出のために使用されるいくつかの検出器列にわたり、光線の焦点外れを生じさせる。

図6は代替の光学システム設計のサジタル断面を例示するが、ここでは、入射角度を測定するために使用される光線は、2つの固定ミラーM1およびM2により折り畳まれる適切な光線経路を与えられる。

図7は図6の設計に類似する別な光学設計のメリディアン断面を例示し、これは、角度の大きなダイナミックレンジ内で、背面集光面と検出器平面との所用の程度の重なりを得るために、2つの固定ミラーM1およびM2により折り畳まれる光線経路を提供する。

図3から図5に例示される物体および検出器設計は、図8の斜視図で概略的に示される。図6および図7に示される設計の対応する（概略）斜視図は、それぞれ、図9および図10に例示される。従って、物体の上述の第1経路および第2経路をそれぞれ使用することにより、同一検出器配列における実像と入射角の両方をモニターする光学機能が、図8に描かれるが、図9は、図6のサジタル図と図7のメリディアン図に例示される設計に従って、折り畳み式ミラーM1およびM2によるビーム偏向を描いている。

入射光角度の走査よりもむしろ波長走査に基づく、本発明に従った代替の光学バイオセンサーが、図11に例示される。このために、同システムは走査単色光源と、波長モニター装置とを備える。

前述の通り、バイオセンサーシステムは、光源LSおよびコリメータレンズCOを備え、モノクロメータMを通過した後、連結プリズムPrへと方向付けられる平行ビームを生成する（格子連結も可能である）。固定入射角度の平行ビームは、連結プリズムのセンサー界面側で全内反射される。次に、ビームのp偏光成分が偏光測定器Pを通過し、そして、レンズL3によりスリットSへと円筒型に集光される。

上記角度走査に基づく実施態様におけるように、ビームのマイナー部分は物体のマイナー部分へと方向付けられるが、この物体のマイナー部分は、透過格子T上に当たる平行ビームを生成する円筒型レンズL3およびL4と組合わさった球状物体SOから構成される。

次に、光ビームは、平行ビームの伝搬の方向がその波長によって決まるように、格子Tにより分散される。次に、このビームは円筒型レンズL5（代替案として、折り畳み式形状のミラー）により、焦点へと運ばれ、その結果、走査波長について、スペクトルは、二次元検出器配列D2の上述の線形マイナー領域部分で

入り口スリットSの一連の単色画像 $\lambda 1$ 、 $\lambda 2$ 、および $\lambda 3$ から構成され、各反射波長がこの検出器領域内の特定検出器位置に対応する。

平行光の入射の特定波長については、全ての分散光線が、波長モニター処理用に指定された検出器素子の列にわたり、線になるまで集光される。かかる列に沿って光強度ピークの位置を測定することにより、適切なアルゴリズムと波長校正手順とを利用すれば、関連するセンサー表面（2-D）画像についての入射波長の実時間測定は、高精度および高感度で可能にされる。

角度走査を利用した実施態様について先に説明されたように、反射領域を限定するために、センサー表面（図13の0'）の一方側で適切なマスク処理を利用するか、かつ／または、波長測定のために使用される強度ピークの必要な安定を獲得するために、そのセンサー表面部分における、適切な、常時全内反射する構造を利用し得る。

角度走査を使用した実施態様についての先の記載に従うと、平行ビームの一部に覆いを導入することもあり得るが、この場合、開口は覆い部に形成されて、入射の波長のモニター用に使用される光線を通過させ得て、これにより、これら光線の背面集光面における集光線の幅および長さは、光検出器の画素配列における画素および画素分離のサイズに関して適切に調節され得、或いは、スポット位置感応性大型領域センサーの場合は、その面積に関連して調節され得る。このようにして、画素の数、すなわち、スポット強度ピーク幅により被覆される光検出器

の面積は、高スポット位置解像度を提供するために最適化され得、入射の測定波長の高感度を可能にする。

図13に記載されるように、開口を通過する平行ビームは、0'で内反射され、レンズL3、L4、およびL5、ならびに格子Tを通過し、0で検出器平面に到達する。

上述の波長モニター構造は図12により詳細に例示されるが、同図は、センサー表面において固定角度で反射された光線束のメリディアン断面を例示する。例示の事例において、分散素子が透過格子Tであるが、これはプリズムであってもよい。各特定波長 $\lambda 1$ 、 $\lambda 2$ 、および $\lambda 3$ の光線は、円筒型素子L3およびL4と

組合わさって球状物体SOにより校正され、格子Tにより屈折され、そして、折り畳み式ミラーM1およびM2により、検出器Dで、メリディアン位置 $\lambda 1$ 、 $\lambda 2$ 、および $\lambda 3$ で線になるまで、別な円筒型レンズL5により鮮明に集光される。

分散素子は、図12において同等に機能する透過格子Tおよび集光レンズL5を置換した設計で、M1およびM2に位置決めされた集光反射格子の形態であり得る。

図13は、センサー表面の異なる部分で反射される光線束のサジタル断面を例示し、センサーゾーン位置4'、5'、6'、および7'は検出器平面においてサジタル位置4、5、6、および7で球状物体SOにより鮮明に画像化されるが、センサーゾーン位置0'で反射された光線はまた、2つの円筒型レンズ素子L3およびL4を通過し、透過格子Tで入射する平行ビームを発生する。次に、光ビームは円筒型レンズL5を通過し、これはメリディアン(meridional)平面で屈折(diffracted)光を集光するが、サジタル高さ0で光線検出器平面交点で、わずかにビームを焦点外しする。球状物体SOのみを通過させる光線については、検出器平面はレンズシステムの実像平面で位置決めされる。

代替の実施態様は図14(メリディアン(meridional)図)および図15(サジタル図)に例示され、同図では、平行ビームは第1ミラーM1および第2ミラーM2により偏向され、次いで、ここでは透過格子Tである分散素子を通過し、その後集光レンズL5が続く。

図16および図17は、エリプソメトリー用の光学生物センサーシステムの代替の実施態様を例示する。特定の偏光測定コンポーネントは、典型的な楕円偏光測定設定として例示されており、他の偏光測定構成は、当業者には明白である。

図16をまず参照すると、例示の生物センサーシステムは光源LSおよび光学コリメータCOを備え、平行ビームを発生する。後者は干渉フィルタIを通過し、次に、単色ビームとして第1線形偏光器P1を通過する。この線形偏向光のs成分は、次に、以下で補償器と称する4分の1波プレートQにより遅延されるが、同補償器は、楕円方向に偏光された光ビームを生じ、第1の平坦走査ミラーSM1に衝突させる。ミラーSM1はビームを第2走査ミラーSM2へと偏向させ、

同ミラーが今度は、ビームを連結プリズム  $P_r$  へと偏向させる（前と同様、格子連結も可能である）。ビームは連結プリズムのセンサー界面側で全内反射され、次に、以下で分析器と称される、第2偏光器  $P_2$  を通過する。ビームの主要第1部分は、球状物体  $S_O$  から成る物体の第1主要部分へと方向付けられ、センサー領域から反射された光強度の検出器配列  $D$  の第1矩形主要領域部分で実像を生成する。

代替の実施態様では、補償器が後に続く線形偏光器  $P_1$  は、ミラー  $SM_2$  とプリズム  $P_r$  との間に位置決めされる。補償器の配向、入射角度および入射波長の好適な設定では、偏光器と分析器の両方の好適な回転のため、センサーゾーンから反射された光を消滅させることが可能である。同ゾーンのサンプルの屈折率または厚さの変化については、消光の後に続いて、入射角度および/または入射波長を走査し得る。

図17は、図16の図に対応する光学生物センサーシステムのメリディアン(meridian)図を例示する。ここでは、ビームの第2のマイナー部分のための光線経路は、2つの円筒型レンズ  $CL_1$  および  $CL_2$  と組合わさった、球状物体  $S_O$  から成る物体の第2のマイナー部分へと方向付けられる。このレンズの組み合わせは、これら光線の投影を生じ、結果として、走査範囲内で、ここではビーム  $a'$ 、 $b'$ 、および  $c'$  により表される、異なる角度で反射される平行ビームが、 $a$ 、 $b$ 、および  $c$  それぞれで検出器領域の第2の線形マイナー部分へと集光され、この検出器領域は実像モニターのために使用される検出器領域から分離されており、その結果各角度の反射率は、この検出器領域内の特定検出器位置に対応する。従って、

物体の上述の第2部分は、その後方の集光面が光検出器配列の平面に位置決めされる。

偏光測定と組み合わせた上述のメリディアン(meridian)2焦点画像化システムは、センサー領域内の反応場所の位置（実像化）と、その場所で反応種の量の定量測定の位置との両方の同時モニターを、同一検出器配列の使用により、入射角度または入射波長のうちの少なくとも一方により、提供する。

本発明を具体化する例示の光学システム設計の上記記載から、2焦点画像化により入射角度および入射波長のうちの少なくとも一方の実際の変化のモニターは、角度スキャナまたは走査モノクロメータを駆動する任意の操作信号からこの変化を誘導する必要性が除去されるという点で、先行技術に関連してかなりの利点を提示していることが、容易にわかる。スキャナ駆動装置電子工学およびソフトウェアは、従って、角度または波長について好適な動的範囲と走査速度とを提供する必要がある。

上述の光学設計は、本発明の光学機能を提示する。しかし、これら光学設計は、これら設計に基づいて構築される装置の好適な性能および機能を達成するために最適化され得たことを、当業者ならば容易に認識する。

また、上述の光学システムでは、2焦点（メリディアン(meridian)平面における）画像化システムは光学レンズに基づいているが、同画像化システムは、画像化品質、画像面平坦さ、および画像面の傾斜を改良して、光検出器配列の必要性に一致させるための屈折(diffractive)光学表面を備え得ることが、容易に理解される。更に、光学屈折(diffractive)は、同一検出器配列の2つの分離した領域への上述の実像および角度投影を形成する物体における主要成分となり得る。

以下には、上述の光学機能を具体化する装置の異なる部分が、より詳細に記載される。

従って、上述の図1から図10の実施態様に従えば、同光学構造は、主として単色光源と走査平面ミラーシステムとを備える照射システム、検知表面と光学的接触状態にある光学連結コンポーネント（平面側部を備えたプリズムまたは格子）、2焦点物体、および光検出器マトリクス配列を備える画像化システムを採用する。光検出器の第1主要部分からの信号をセンサーパターンの実像へと翻訳すること

を可能し、そして光検出器の第2のマイナー部分からの信号を検査光の入射角度へと翻訳することを可能にするアルゴリズムおよびコンピュータプログラムが提供される。各センサーゾーンについての、例えば、最小値または最大値のような光強度の特定パラメータでの入射角度は、従って、同時にモニターされ得る。

例えば、本発明は、約3mmから30mmの範囲内の直径を有するビームが、目的の角度または波長の範囲内で、それぞれ0.0001度、および0.002mmの分解能で、角度または波長が走査およびモニターされることを可能にするが、この場合、光線は所望の程度に平行化される（約0.002度の範囲内にあるのが好ましい）。

#### 照射システム

照射システムは、好適な単色波長で平行ビームを発生する。本発明の角度走査モードでは、ビームは平行ビームを発生する平面ミラーシステムにより走査され、入射角度は検知表面で走査されるが、検知表面における照射面積は、主として一定である。波長走査モードでは、光学コリメータと組み合わせた波長分散装置は、固定角度で検知表面に入射する平行ビームを発生する。

全内反射界面への入射光は、p偏光成分、或いは、p偏光成分とs偏光成分の両方から構成され得て、すなわち、好適に偏光分極され得る。

光源は、発光ダイオードまたはタングステンハロゲンランプのように主として非コヒーレントであるか、レーザーダイオードのように主としてコヒーレントであるか、いずれであってもよい。

角度走査に基づく装置において、光源は、干渉フィルタと組み合わせた発光ダイオードまたはレーザーダイオードのような主として単色系であるか、または、好適な数の波長を経時的に、各角度走査について1つの特定波長ずつ発光することが可能な光源か、いずれであってもよい。

波長走査に基づく装置において、光源は、走査波長分散装置と組み合わせた、例えば、タングステンハロゲンランプのような白色光源であり得る。かかる走査モノクロメータは、波長範囲内で各波長を経時的に発光するように動力化され得、これは、コリメータと組み合わさって、平行ビームを発生する。

#### 角度走査装置

基本的には、走査装置は光ビーム偏向器である。偏向器は、反射型、屈折型、および回折型に分類可能である（音響光学スキャナー、ホログラフィックスキャナー）。走査パターンおよび走査運動は、ビーム変位量およびビーム変位率と、ビーム偏向量およびビーム偏向率との両方に関与して、込み入って相互に関連付



けられる。走査運動は本質的に、回転運動、振動運動、並進運動の3種の基本運動に分類される。

平行ビーム偏向成分を利用することによる、平行光ビームの経時的入射角度走査は、ミラーの振動もしくは回転、または格子の移動などの低慣性成分、あるいは慣性を伴わない音響光学的偏向器により生成され得る。

角度走査画像処理のためのビーム偏向システムは、好ましい実施態様においては、複数ミラーから構成されるが、これらは、非屈折光学として、色収差について補正される必要がない。好ましい形態では、2つの振動式または回転式相互関連平面ミラーは、平面側部を備えた連結プリズムまたは格子と組み合わせられるが、同プリズムまたは格子は、ビームの角度走査期間中は平行ビームを偏向させて、その結果ビームの光学軸が常にセンサー表面で主として同一点と交差し（ビームウォーキングを低減するために、すなわち、機器の感度を向上させる光強度の安定性を増すために）、そして、画像化システムは、実際の入射角度の瞬時測定器具内への反射光の同時投影と組合わさって、センサー表面の実像を生成するように設計される。

平行ビームについての入射角度は、典型的には、 $\pm 5^\circ$  の角度範囲内で、 $\leq 0.0001^\circ$  の検出角度分解能で、0.000001の屈折率分解能に対応して走査されるべきである。実時間モニターについては、角度走査は迅速であるべきである。

好ましい走査角度間隔は、820nmの波長では約 $70 \pm 6^\circ$  であり、あるいは660nmの波長では約 $77 \pm 8^\circ$  である。

上述の2焦点画像化システムは、文献で確認できる平行入射ビームの角度走査のための無数の配置のうちのいずれかと組み合わせられ得る。

2つの平面ミラーを備える好ましい角度スキャナーは、それらの回転運動が操作電子工学により相互に関連付けられるが、図1および図2と関連させて既に記

載されている。

第1の代替の操作原理は、Harrick, N.J.著、Internal Reflection Spectroscopy、Harrick Scientific Corp.、1987年、New York、185頁に記載されたツイン型平行ミラーであるが、本明細書中の図18には、本発明の具体的に記載された

実施態様におけるようなプリズムと図18の連結凸レンズを置換した後の状態が例示される。

第2の代替の走査原理は、Lenferink, A.T.M.らにより「センサーとアクチュエータB」3巻(1991年)262頁で記載され、本明細書中の図19に例示される、また、Oda, K.らによりOptics Communications 59巻、No5、6(1986年)362頁に記載され、本明細書中の図20に例示されるスキャナーに従って、1つの平面ミラーおよび集光面平坦化光学素子を備える、光学的に最適化された(すなわち、全角度範囲について重畳する集光面を獲得するため)システムである。

集光面平坦化光学について先行技術の原理に均等な、さらに別な代替の走査原理は、図21に例示されるように、凹状ミラーMcの集光面に沿って、照射源LSからの集光ビームを走査する平面ミラーSM1から構成され、角度走査された平行ビームを発生する。これはまた、凹状円筒型ミラーと組み合わせた1つの振動式または回転式平面ミラーを照射システムが含み、同ミラーがビームの角度走査期間中に集光ビームを偏向させ、その結果、その集光面が円筒型ミラーの集光面と重なり、それにより、走査平行ビームを発生すると記載され得る。

さらに別な代替の走査原理は、例えば、WO 93/14392に記載され、かつ、本明細書中の図22に例示されるような、軸回転的に移動する照射システムを備える。

さらに別な可能な走査構造は、図1および図2に協同ミラーSM1およびSM2に取って代わる、偏心回転多角度スキャナである。典型的には、かかる多角度スキャナは、回転ホイールの周辺部上に搭載された8つの平面上ミラーから構成される。

#### 波長走査手段

本発明の方法および装置における反射率測定法が固定角度における入射波長の関数として実施される場合には、光源は、実像化および画像検出と組み合わせて

特定波長の各々で、一連の画像を経時的に生成する走査モノクロメータと組み合わせられる。同じ画像検出器(または分離した検出器)のより小さい部分は、波長を測定するために使用される。この二重検出器機能が可能になるためには、この

より小さな検出器部分は、波長分散要素と組み合わせられ、同素子は異なる波長で光を空間的に分離する。

入射波長は、典型的には、 $\leq 0.002\text{nm}$ の検出波長分解能で、 $\pm 200\text{nm}$ の波長範囲内で、 $0.000001$ の屈折率分解能に対応して走査されるべきである。

その最も簡単な形態においては、分散素子はプリズムから構成される。プリズムの光の屈折のために、光線は、例えば、検出器に届くためには、反射素子により偏向されねばならない。

格子分光器は、プリズム分光器に類似する。分析される光は、スリットおよび平行化レンズの組み合わせをまず通過する。次いで、溝がスリットに平行に設けられた反射格子または透過格子に達し、ここでは、異なる波長の光は異なる角度で屈折(diffract)され、各オーダーについて、スペクトルへと引き出される。第2レンズはこれら屈折(diffracted)光線を検出器配列上に集光させる。単位幅あたりの溝の密度が高い格子は、数個のオーダーを与え得るが、それらのスペクトルは、より低密度により形成されるスペクトルよりもずっと幅広く分散される。

一般に、当業者には理解されるように、本発明のバイオセンサーシステムの特実の実施態様と共に先に記載された2焦点画像化システムは、文献で得られる走査モノクロメータのための多数の配置と組み合わせられ得る。

#### センサー表面および平行ビームへの光学結合

好ましい実施態様においては、平行光は、全内反射条件下で、センサー表面基材と実際のセンサー表面との間の界面に衝突する。基材／センサー表面は、上記の光学結合媒体と光学的接触状態になる、例えばガラスまたはプラスチックの透明基材を被膜する検知層から構成される、分離した交換可能なコンポーネントであり得る。基材は、センサー表面へと照射システムの光ビームを透過する連結プリズムに、屈折率の点で一致するべきである。代わりに、連結プリズムの平面側は基材であり得る。

代替の光学結合原理によれば、基材は、センサー表面基材界面上か、または、基材上のこの界面の反対側か、いずれかで、格子の形態をとり得る。

例えば、検出原理がSPRに基づく場合、センサー表面は、金または銀のよう

なプラスモン活性材料を備える。他方で、内部ブリュースター角度検出の場合は、センサー表面は透明材料から成り、すなわち、金属薄膜は存在しない。

角度または波長の検出用の光を提供するセンサー表面平面におけるセンサー表面部分は、走査角度／波長範囲について低変動反射率を有するべきである。例えば検出光のこの部分の範囲でSPRによっても引き起こされるような、本発明の走査モード中の可変光強度は、角度判定の精度を阻害しがちである。それ故、上述のUS-A-5,313,264に記載されるタイプのセンサー表面ドッキングシステムの場合では、サンプル（例えば、フローセル材料と接触する部分）とは接触状態にならないセンサー表面の一部を、角度／波長測定用に使用することが好ましい。かかる部分は、装置で使用するソフトウェアにより、例えばフローセル壁に配置され得る。これにより、検出器上の集光線の光強度は、角度走査または波長走査の間は、サンプルとのいかなる光相互作用に対しても感応しない。

あるいは、センサーチップの純粋に反射する部分（減衰波はない）は、入射光角度または波長の測定のために使用されて、サンプルによっては影響されない角度走査または波長走査の間に、光ビーム強度を得る。

#### 画像化システム

顕微鏡モニターまたは大型領域モニターの程度の選択に依存して、当業者は好適な画像化システムを設計し得る。

角度走査処理の場合は、各特定入射角度について、反射光は対物レンズにより収集され、これは主として静止的に照射されたセンサー領域を画像化する。照射領域の起こり得る辺縁ウォークは問題ではなく、ただしそれは画像化された照射センサー表面の定常的に照射された中央部分である。画像化システムは、最小反射率または最大反射率がサンプル領域にわたり、屈折率の局地分布に対応する検出器平面において、画像を形成する。画像化のための最適光強度は、照射光学動力の主要部分が、センサー表面の定常的に照射され、かつ、画像化する部分へと

集中することを必要とする。

顕微鏡の適用について、センサー領域は、典型的には20Xから40Xまで拡大される。この画像は例えば、CCD（帯電結合型装置）カメラタイプのような光検

出器マトリクスにより、検出され得る。あるいは、この画像は、典型的には10Xから20Xまで、接眼レンズにより更に拡大され得、かつ、光検出器マトリクス上に投影され得る。

広い領域の適用について、センサー表面は一般に低減される。典型的には、例えば、3 cm×3 cmのセンサー面積は、従来型CCD検出器では約0.3Xから0.6X低減される。

本発明における用途についての画像化システムの2つの典型的な設計を、以下に挙げる。

1. 15×15平方 $\mu$ メートルの画素寸法を有する光検出器配列と、6×8平方ミリメートルの配列面積とを一緒に有する、倍率15Xの対物レンズは、1×1平方 $\mu$ メートルの方位分解能(lateral resolution)を有する、およそ0.4×0.5平方ミリメートルの全センサー面積をモニターし得る。

2. 15×15平方 $\mu$ メートルの画素寸法と、6×8平方ミリメートルの配列面積とを有する、倍率0.2Xの対物レンズは、75×75平方 $\mu$ メートルの方位分解能(lateral resolution)を有する、およそ3×4平方センチメートルの全センサー面積をモニターし得る。

#### 画像処理およびモニターソフトウェア

モニターされた反応ゾーンの分析および提示用のコンピュータソフトウェアについての要件の概要を以下に挙げる。

非コヒーレント光の使用により、センサー表面にわたる全内反射された最小反射率の分布は、照射光の入射角度に同調する画像の形態で検出され得る。画像反射データおよび画像関連データは、画像処理コンピュータプログラムにおいて実時間で処理され、例えば、センサー表面座標の関数として、定量化された質量分布(mass-distribution)で、三次元屈折率測定画像を提供する。

屈折率測定画像間の高時間分解能は、短い角度走査期間を要求する。典型的な

市販目的のフレームレートの範囲は、50Hzから60Hzのオーダーにある。検出された強度の各フレームは、特定角度または波長に対応する。従って、1秒の間に、50~60の数の強度データ点および角度データ点が、センサーゾーンに対応す

る検出器素子の各々について読み込まれる。

特定センサーゾーンをカバーする検出器素子のクラスターについての好適な平均値を得るために、画像処理ソフトウェアは、各角度または波長において、選択された素子の強度をまず平均化することにより、ゾーンについての反射曲線を算出し、次いで、この強度対角度または波長をプロットする。例えば、各ゾーンは、1秒あたり1反射曲線を得ることが可能である（すなわち、反射曲線速度は1Hzである）。第2アルゴリズムは、サンプリングされたゾーン内の屈折率と相関関係のある曲線パラメータで、通常は、反射曲線における最小反射率または低下部(dip)の重心で、角度または波長を算出する。

センサーゾーンとのサンプル相互作用の速度が高ければ高い程、角度および／または波長分解能はより高いことが要求され、また、より高いフレームレートが画像処理に必要とされる。

マトリクス検出器の第1主要部分に関する実像が読み込まれ、いわゆるフレームグラビング(frame-grabbing)プログラムにより記憶されるが、検出器マトリクスの第2の副部分に集光される角度関連のまたは波長関連のビームについての最大強度の位置、あるいは、強度曲線の重心は、好適なアルゴリズムにより算出および記憶される。

角度走査モードに基づく典型的な測定／算出手順は、以下に記載される。

第1に、反射率データの初期規格化は、サンプル添加をせずに、角度走査中に全反射率を測定することにより、実施される。この手順は、以下の工程を含み得る：

- a) 各センサーゾーンについて、中心画素および選択された数の近隣画素を含む、光検出器マトリクス上の画素のクラスターを規定する、
- b) 測定工程について計時(clock)を開始する、
- c) 所定の角度範囲にわたり、角度走査の駆動を開始する（駆動は、例えば、ステッピングモータまたは回転モータの制御もしくは振動ミラー用の移動コイル

電流である）、

d) 光検出器マトリクスの2-D画像検出器部分から画像データメモリへ、各センサー表面ゾーンに対応する検出器画素からの平均2-D反射についての一連の生データ画像を読み出す、

e) 光検出器の角度検出器画素列(row)から角度データメモリへ、反射強度ピークについての一連の生データ(画素数、時間)を同時に読み出す、

f) 各2-D画像について、検出器画素列上のそれぞれの強度ピークの画素数から入射角度を算出する、

g) 画像/角度/時間マトリクスにおいて、それぞれの生データ画像についての角度および時間を記憶する、

h) 2-D画像の測定された反射率値から規格化マトリクスを算出し、規格化反射率が全ての角度について、センサーゾーン内部で同一である、および、

i) 規格化マトリクス(規格化データ、角度)を記憶する。

ここで、システムは、角度走査中の最小反射率を測定することにより、各センサーゾーンにおけるサンプル表面濃度(concentration)をモニターする準備ができている。測定は、表面の溶剤のみでまず実施され、次いで、サンプルに溶剤を加えて実施される。測定手順は、以下の工程を含み得る：

a) 測定過程について計時を開始する、

b) 所定の角度範囲にわたり、角度走査の駆動を開始する、

c) 光検出器マトリクスの2-D画像検出器部分から画像データメモリーへと、各センサー表面ゾーンに対応する検出器画素からの、平均2-D反射画像についての一連の生データを読み出す、

d) 光検出器の角度検出器画素列または同複数列(単数または複数)から角度データメモリーへと、反射強度ピークについての一連の生データ(画素数、時間)を同時に読み出す、

e) 各2-D画像について、検出器画素行列のそれぞれの強度ピークの画素数から入射角度を算出する、

f) 画像/角度/時間マトリクスにおけるそれぞれの画像について、角度および時間を記憶する、

- g) それぞれの規格化マトリクスを用いて補正することにより、2-D画像の生データマトリクスから規格化2-D画像を算出する、
  - h) 規格化された画像／角度／時間マトリクスにおけるそれぞれの規格化画像について、角度および時間を記憶する、
  - i) 特定センサーゾーンと、規格化された画像／角度／時間マトリクスの対応部分とを選択する、
  - j) 反射曲線に関連する角度依存性についてのデータ（規格化反射率、角度）をコピーする、
  - k) j) におけるデータから、最小反射の角度および反射率を算出する、
  - l) 規格化反射マトリクスから、角度走査についての中間時間（（開始時間＋停止時間）／2）を算出する、
  - m) 最小反射角度（k における）におけると、最小反射角度／センサーゾーン／中間時間マトリクスにおける特定センサーゾーンとについて、中間時間を記憶する、
  - n) それぞれのセンサーゾーンと時間についての最小反射角度シフトを、センサーゾーンとサンプル反応前にともに得られた、センサーゾーンについての基準角度に関連させて算出する、
  - o) 角度シフトから、センサーゾーンの内部表面濃度を算出する、
  - p) 内部表面濃度をマトリクスに記憶する（表面濃度、中間時間）、
  - q) 次の特定センサー表面ゾーンを選択し、上記のように表面濃度を算出する、
  - r) 選択された基準ゾーンについて表面濃度格差を算出する、
  - s) 相対的表面濃度をマトリクスに記憶する（表面濃度格差、中間時間）、
  - t) それぞれの表面ゾーンについての時間の関数として、内部表面濃度と相対的表面濃度を、それぞれ、グラフと表に同時に提示する、
  - u) 次の角度走査の駆動を開始する、および
  - v) 最終分析時間まで、上記測定手順を反復する。
- 角度の駆動は連続的であり得、画像データおよび角度データの記憶は、所定の角度範囲にわたる角度データ走査により固定(triggered)され得る。これら記憶さ



れた画像／角度／時間マトリクスは、コンピュータ性能に依存した速度で算出および提示手順へと移行される。

表面濃度を測定および提示する代わりに、もちろん、表面濃度変化、表面屈折率、表面屈折率変化、表面厚さ、および表面厚さ変化を測定および提示することは可能である。

異なるセンサースポットまたはサブゾーンに結合または吸着されるサンプル種の量は、分析用ソフトウェアにより互いに関連付けられ得る。屈折率測定画像の時間関係は、例えば、特定サンプル結合／離脱、センサー表面に沿ったサンプル変位に、または分離過程についての質量(mass)分布力学データを処理する更なる画像データにより得ることを可能にする。

コヒーレント光の使用は、センサー表面にわたる最小全内反射の分布に加えて、局地的に変更された質量分布により引き起こされる干渉測定変化をも検出できるようにする。そのような干渉帯の横(lateral)方向移動パターンの画像データ処理は、センサー表面上の横方向屈折率変化に対する向上した感度を得るために使用され得る。

本発明は、もちろん、先に説明され、図面に例示された実施態様に限定されず、多くの修正および変更が、以下の請求の範囲に規定される一般的な発明の概念の範囲内で行われ得る。

#### 実験手順の例

本発明の原理は、図22に記載されるシステムに類似する軸回転的に移動する照射システムの使用により、766nmの中心波長の発光ダイオード、8 mmの直径のp偏光された平行ビームを提供するレンズおよびシート偏光器、3 nmの帯域の干渉フィルタ、図3、図4、および図5に従った画像化実施態様、およびビデオレコーダに接続されたCCD光検出器マトリクスを用いて、図24aから図24dに提示されるように変更された。図24a～図24dにおいて暗色の右部分として画像化され、画像の約25%を占める覆い部は、図23の干渉フィルタIに位置決めされるが、ビーム断面に関して偏心されており、その結果、これはビーム幅の約15%を占める。

図24aから図24dは、フローセルにおける濯ぎ溶液に曝されるセンサー表面の一連のSPR画像を例示し、センサー表面は多様な屈折率（光学厚さ）の16ゾーンから成り、ゾーンサイズは $0.5\text{mm} \times 0.5\text{mm}$ であり、特定入射角度におけるそれぞれの画像はa)からd)までの順で増えていく。CCDの角度検出領域内の集光スポットの位置が低いほど、入射角度は大きい。入射角度は図24aでは $65.9^\circ$ であり、図24bでは $66.4^\circ$ であり、図24cでは $66.9^\circ$ であり、図24dでは $67.4^\circ$ である。

ここにおける $0.1^\circ$ のSPRについての角度の変化は、ゾーンの反応層内の0.001の屈折率の変化に対応するので、図24aと図24b、図24bと図24c、および図24cと図24dそれぞれの間で、屈折率のシフトは0.005である。

特定ゾーン内のSPRでは、同ゾーンにおいて反射された光の最小値として検出され、対応する入射角度は、同ゾーンの屈折率（光学厚さ）の尺度である。SPRにおける入射角度が大きいほど、光学厚さ（または一定厚さでの屈折率）も大きくなるが、これは、ゾーンへの結合サンプルのより大きな表面濃度に対応する。

図24aにおいて、以下のゾーン座標（行、列）は、SPRに起因する消光を例示する：(1,1)、(1,2)、(1,3)については、図24bにおけるより大きい入射角度が、ゾーンにおいてSPRを生じ、(2,1)、(2,2)、(3,1)、(3,2)については、後半のゾーンにおいてより高い表面濃度を表す。図24cにおいて、サンプルのさらにより高い表面濃度を有するセンサー表面のゾーンは、ゾーン(4,2)および(4,3)で示される。図24dにおいて、サンプルの最も高い表面濃度を有するセンサー表面のゾーンは、ゾーン(4,1)で示される。

例として、ゾーン(3,1)における屈折率はゾーン(1,1)についての屈折率よりも0.005高いが、ゾーン(4,2)における屈折率は、ゾーン(2,1)についての屈折率よりも0.005高く、また、ゾーン(4,1)における屈折率は、ゾーン(1,1)についての屈折率よりも0.015高い。

上記結果は本発明の機能である、同一光検出器マトリクス上のゾーンデータおよび角度データの同時測定を利用することによる、センサー表面上の多数ゾーン定量分析のための光学装置を提示している。次いで、好適な評価用コンピュータ

プログラムは、一次元スポット位置分析用第1コンピュータプログラムを二次元強度パターン分析用の第2コンピュータプログラムと組み合わせることにより、特定センサーゾーンについてのSPRに対する角度の高感度かつ高速判定を提供し得ることが、当業者によって容易に評価される。

更に、本発明はまた、光検出器マトリクス上のゾーンデータの測定と、別個の検出器上の角度データの同時測定を提供することが、当業者によって容易に評価される。

前記の事項から、本発明の特定の実施態様は例示を目的として本明細書中に記載されてきたが、本発明の精神および範囲から逸脱することなく、多様な改変がなされ得ることが理解される。従って、本発明は、添付の特許請求の範囲によるもの以外に、限定されない。

【図1】

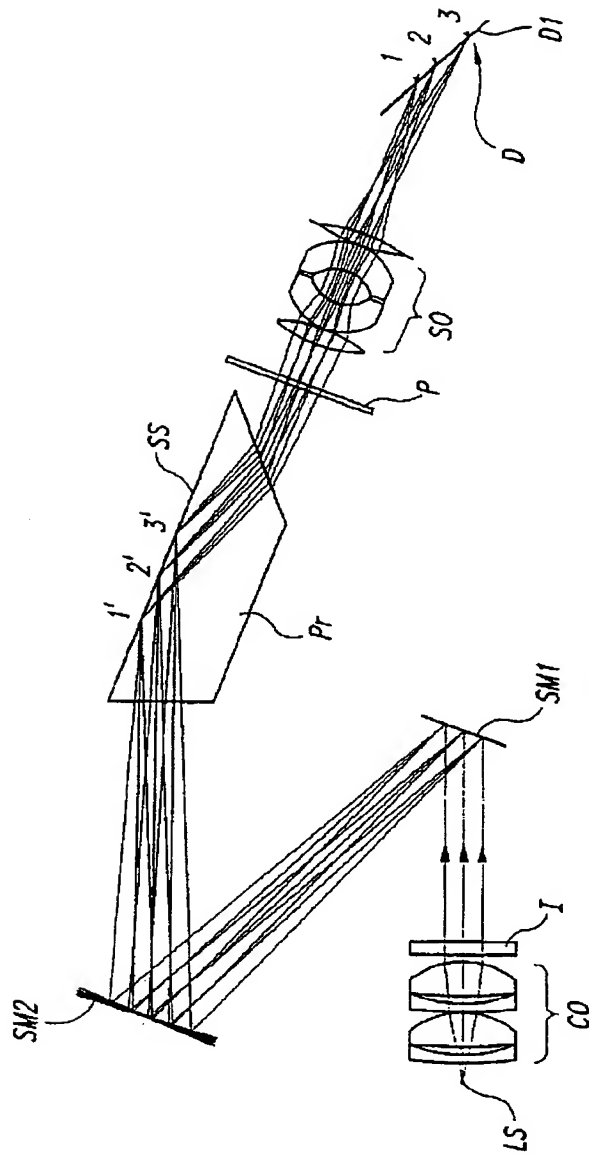


Fig. 1

【図2】

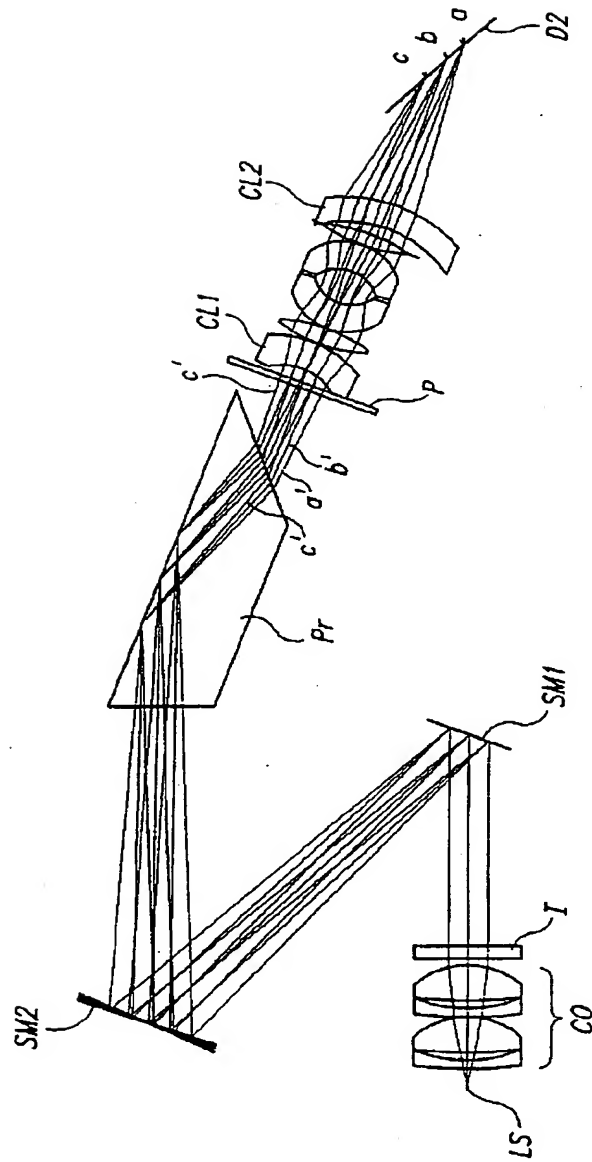


Fig. 2

【図3】

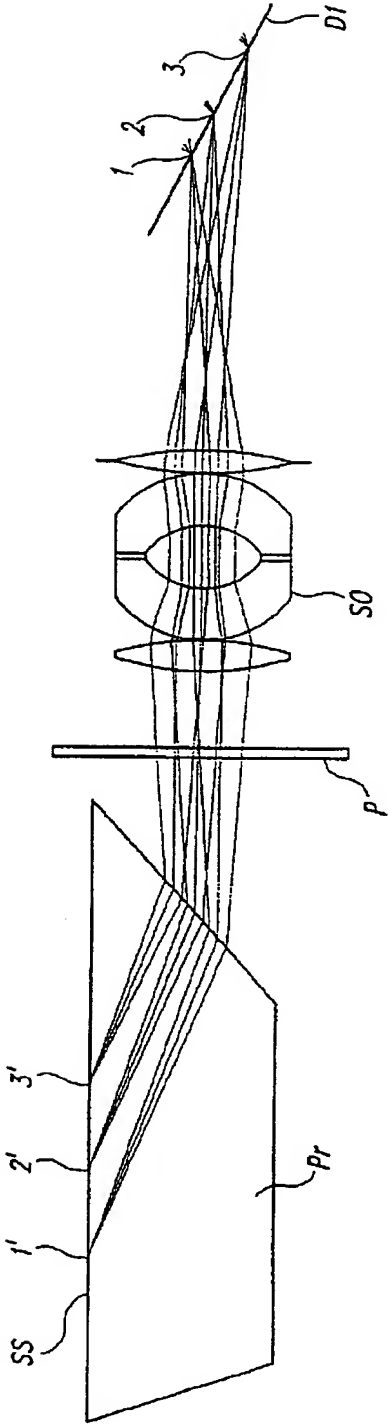


Fig. 3

【図4】

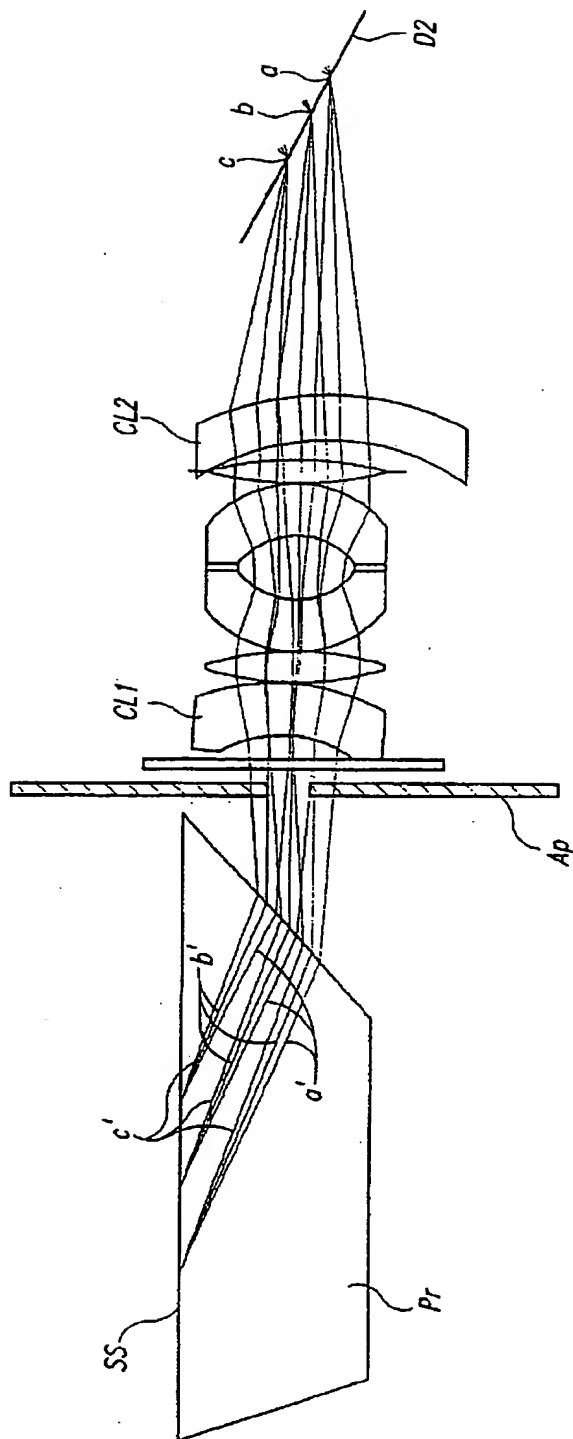


Fig. 4

【図5】

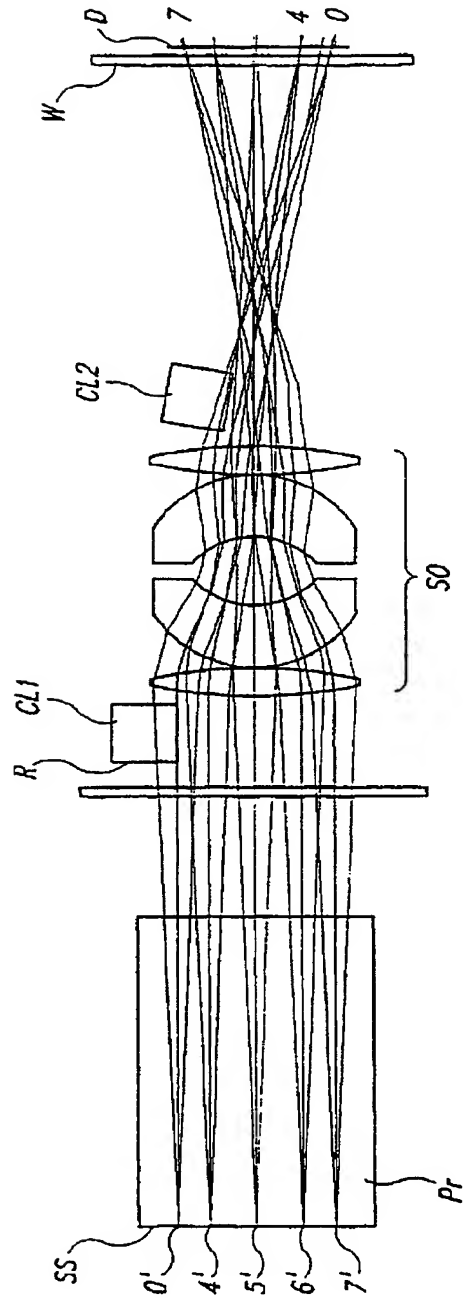


Fig. 5



【図6】

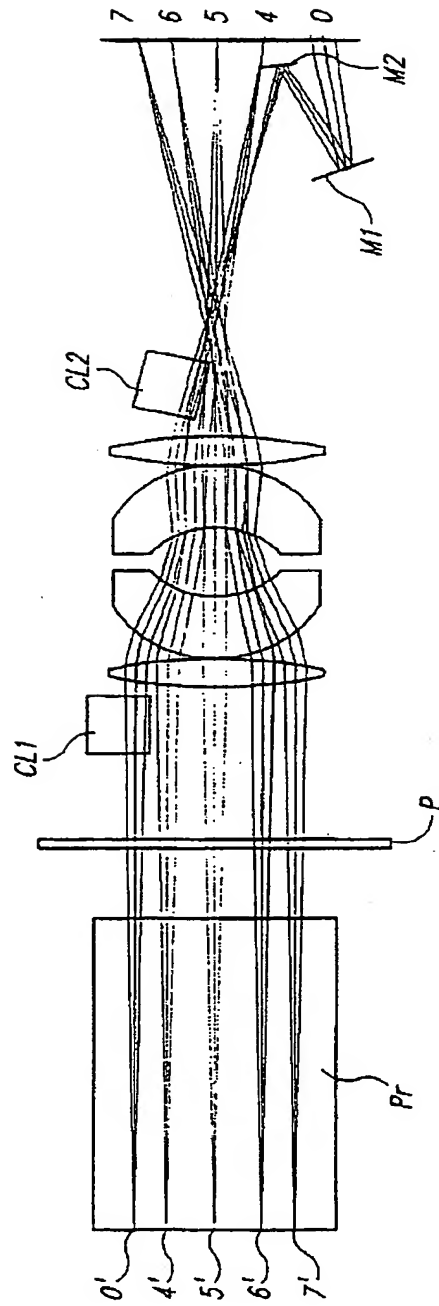


Fig. 6

【図7】

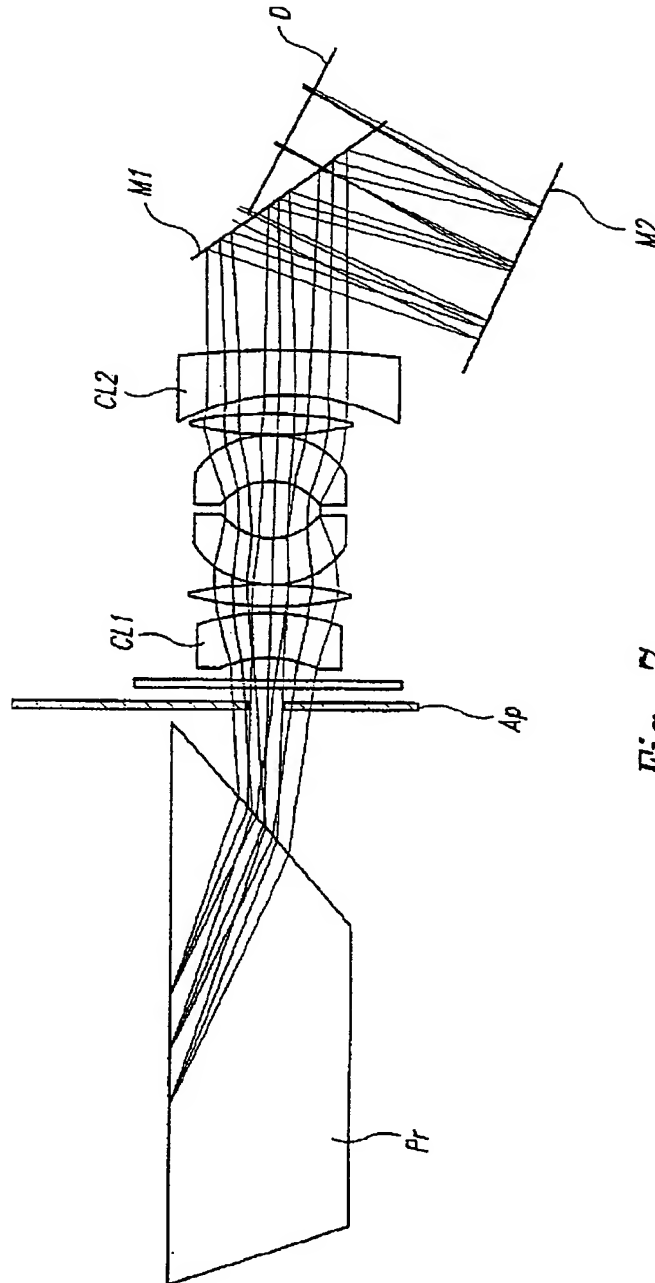
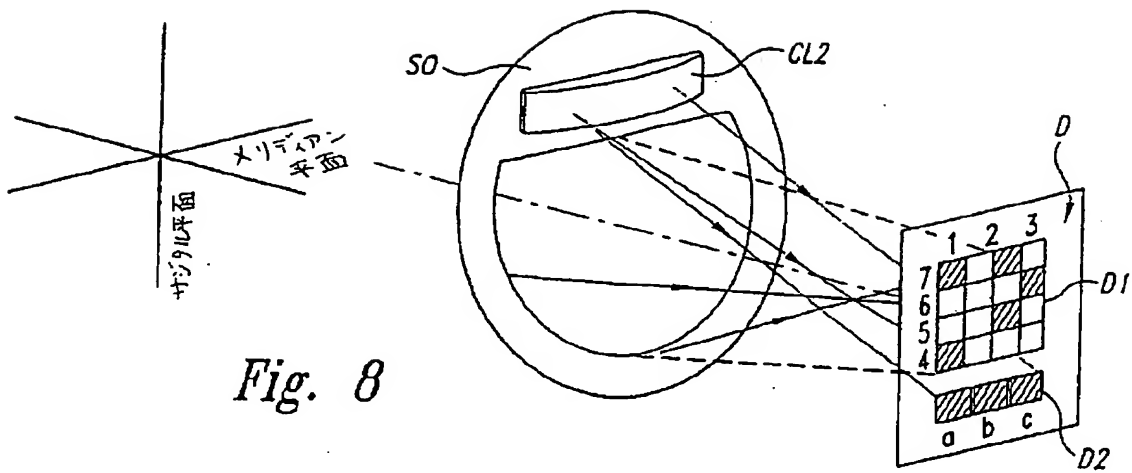
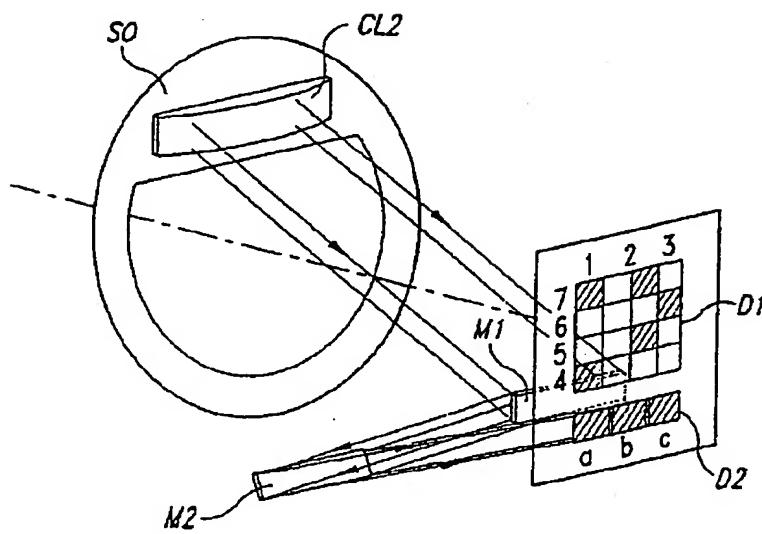


Fig. 7

【図8】

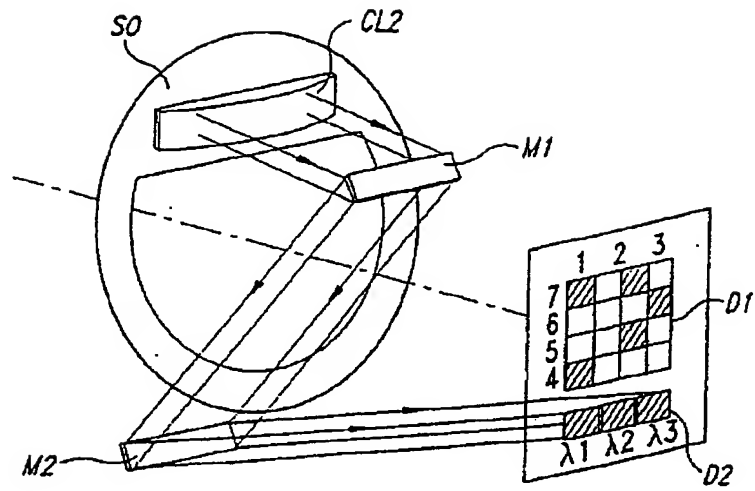


【図9】



【図10】

Fig. 10



【図11】

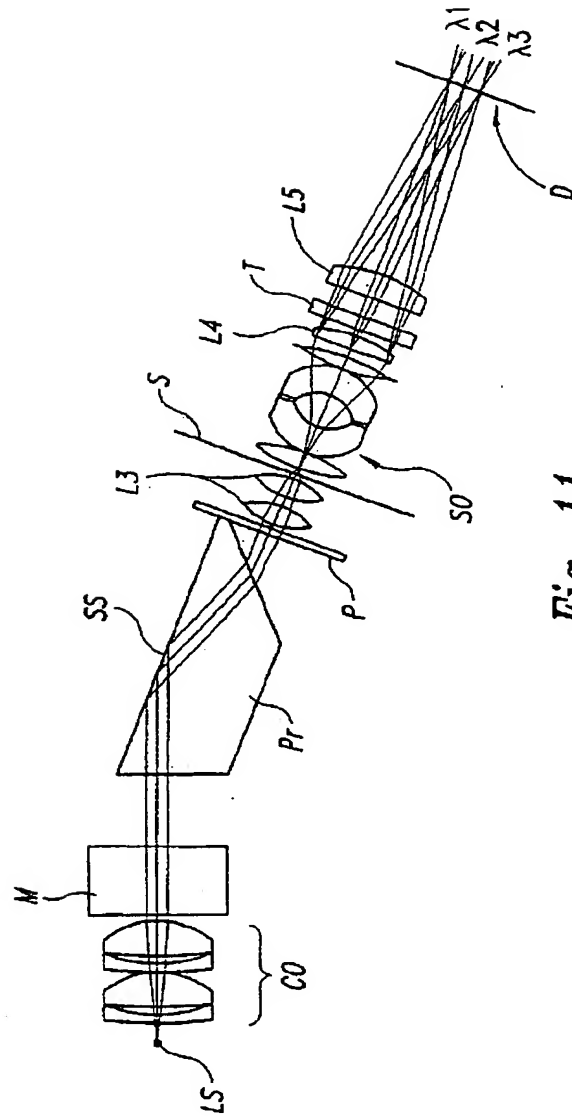


Fig. 11

【図12】

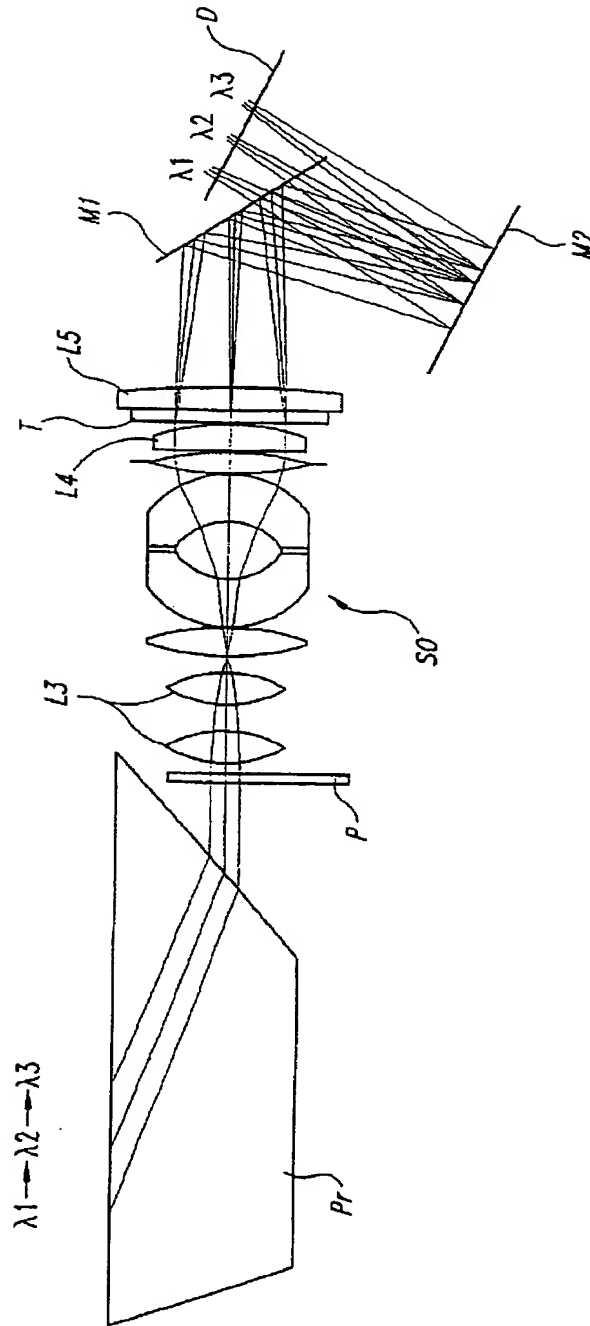


Fig. 12

【図13】

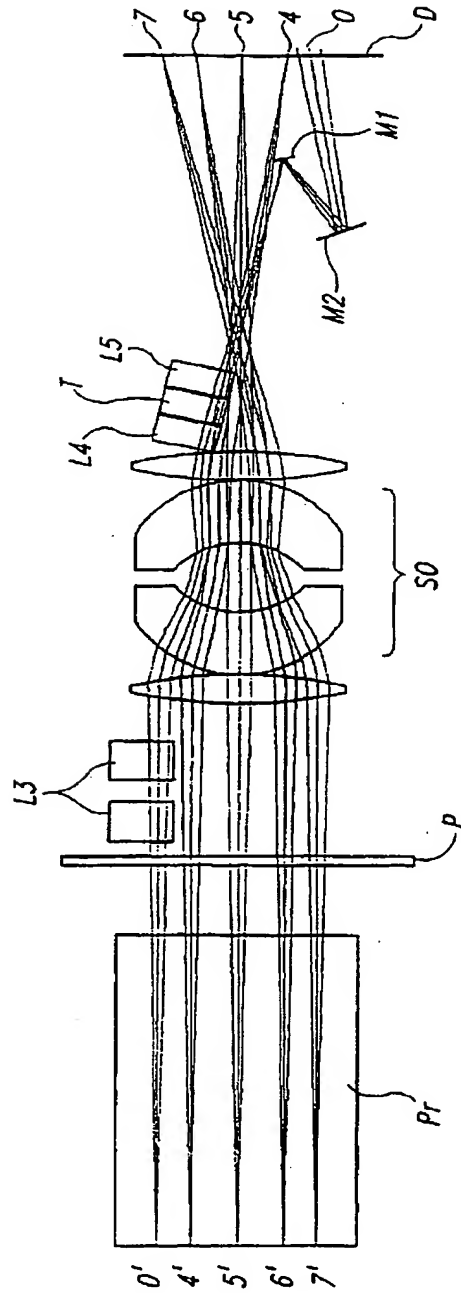


Fig. 13

【図14】

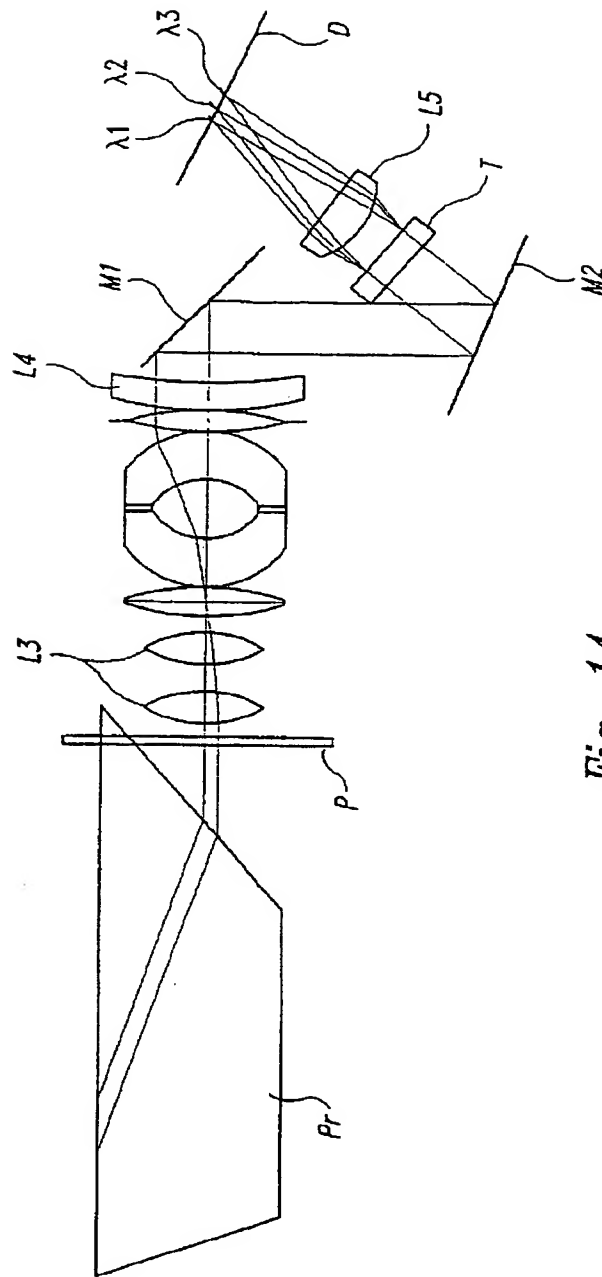


Fig. 14



【図15】

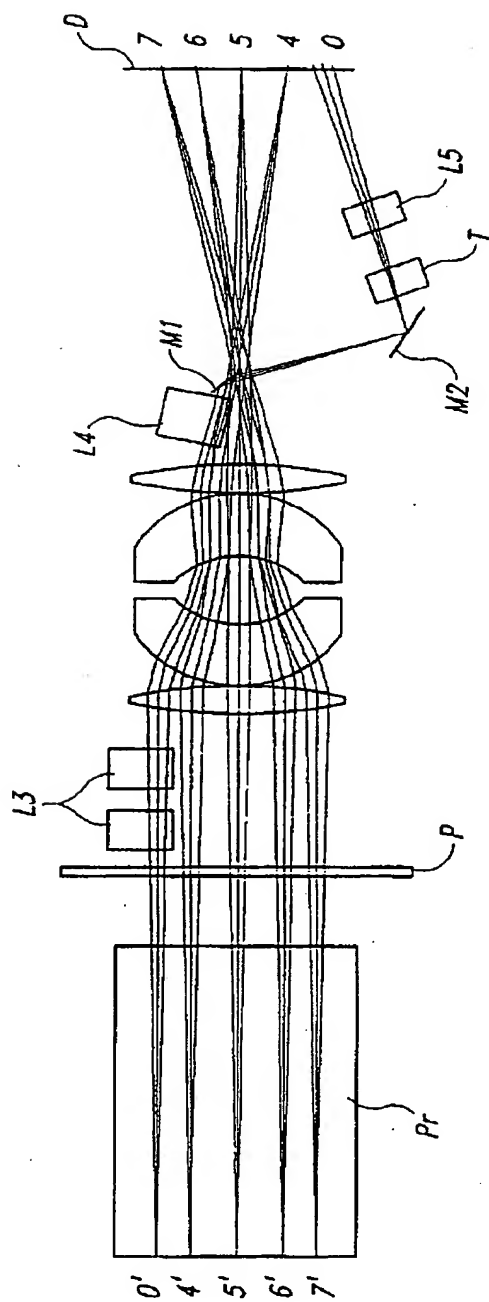


Fig. 15

【図16】

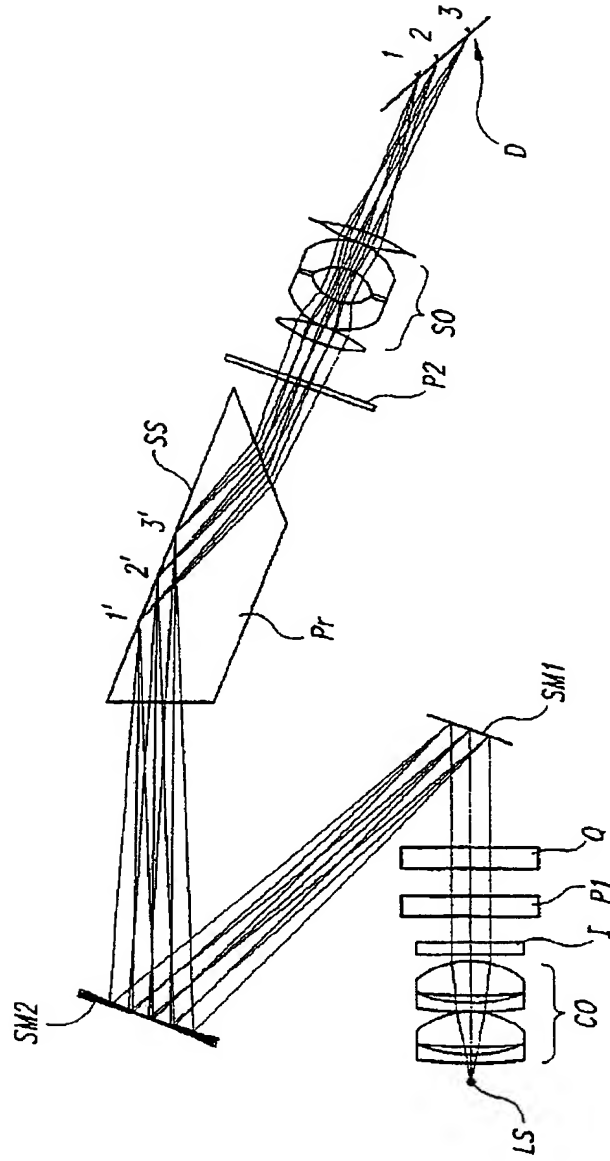


Fig. 16

【図17】

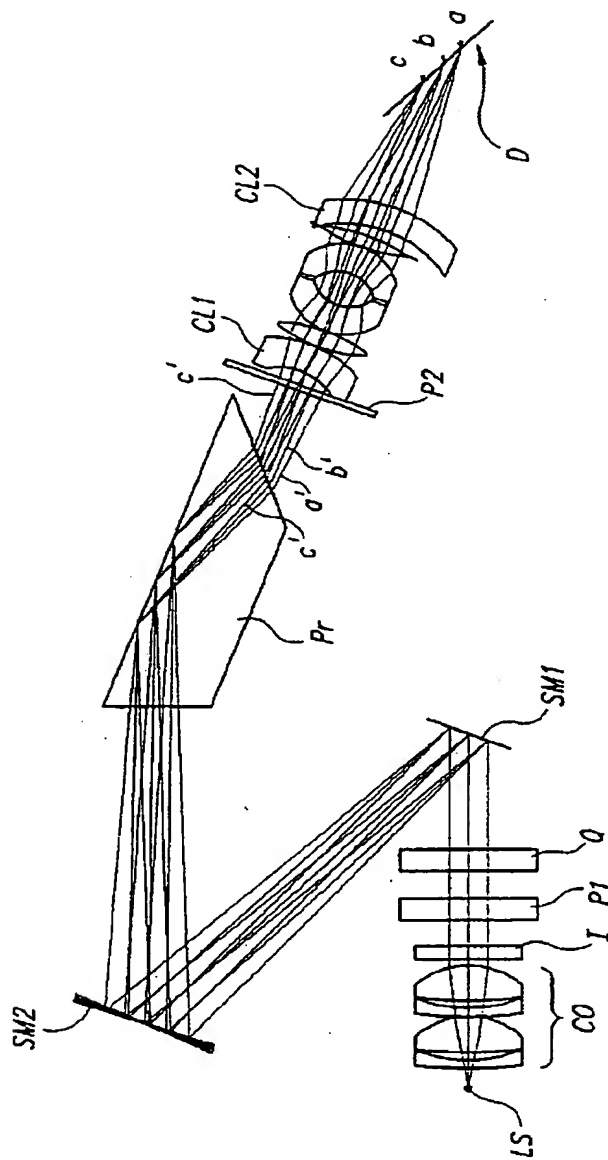


Fig. 17

【図18】

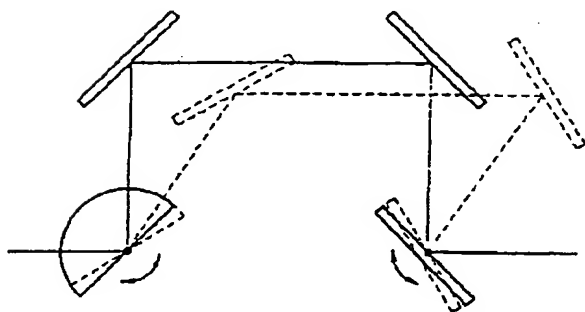
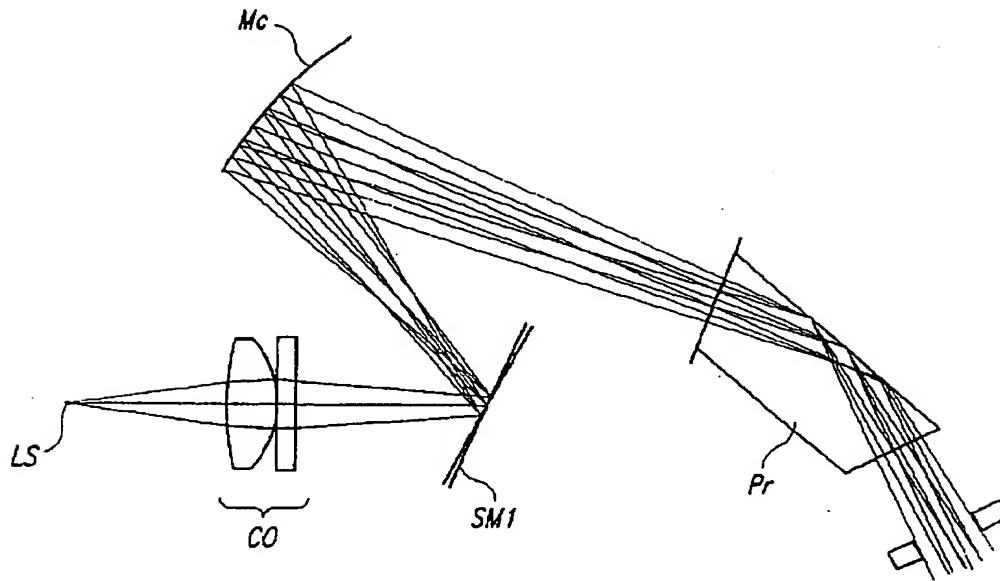


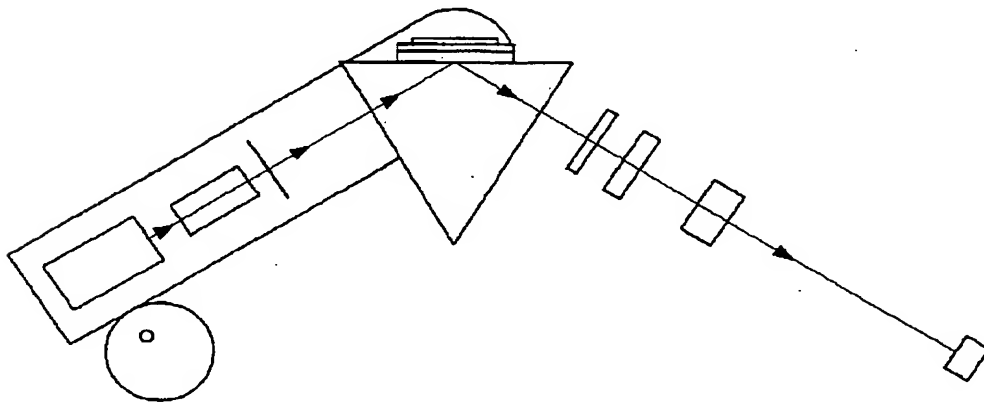
Fig. 18



【図21】

*Fig. 21*

【図22】

*Fig. 22*

【図23】

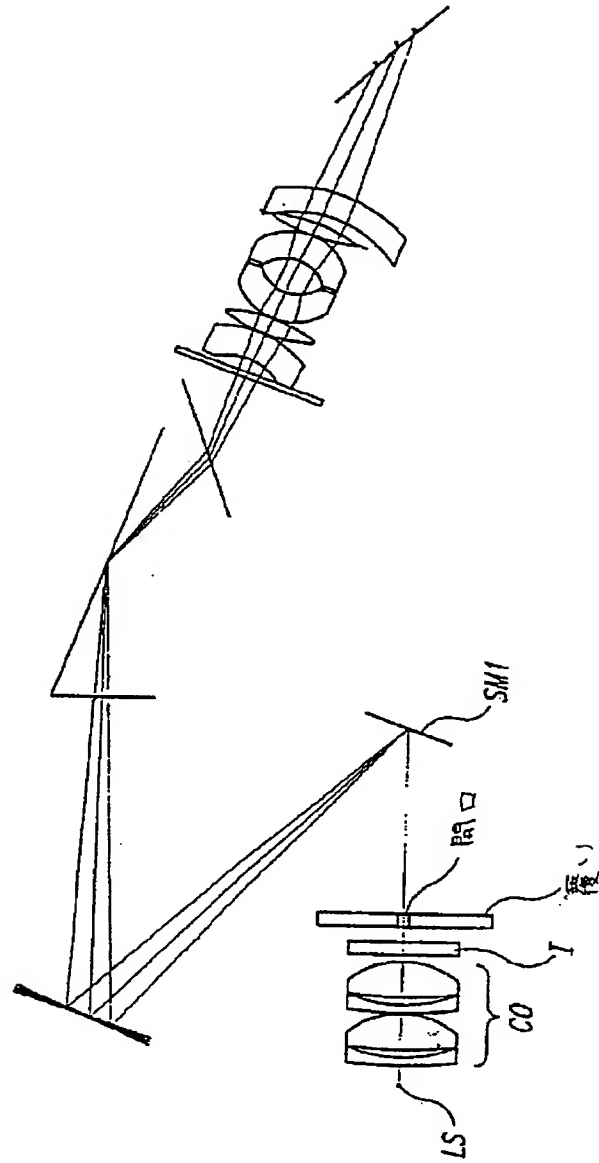
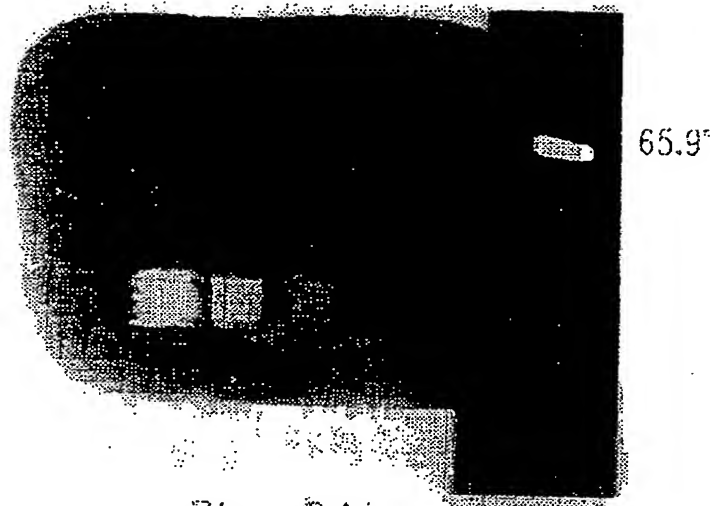
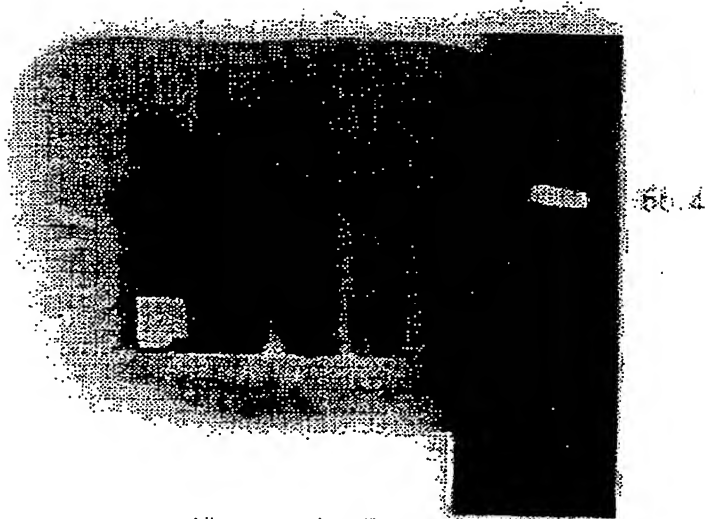
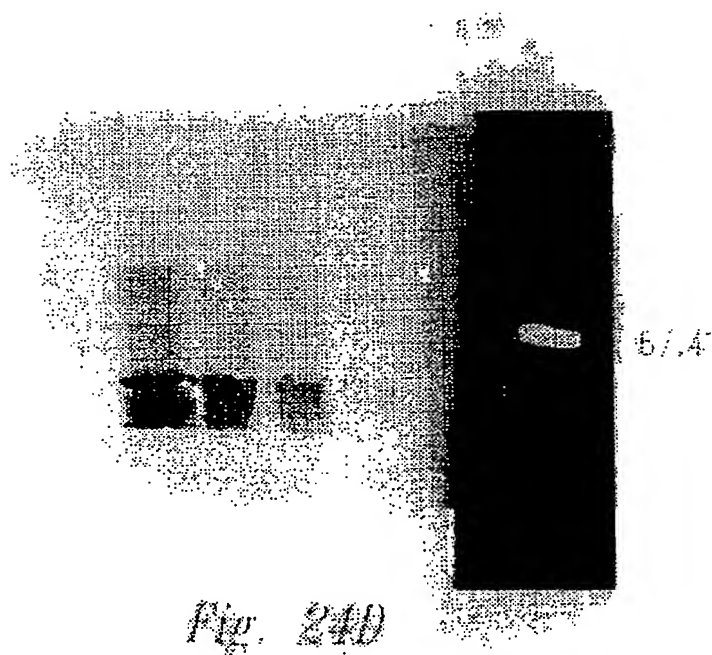
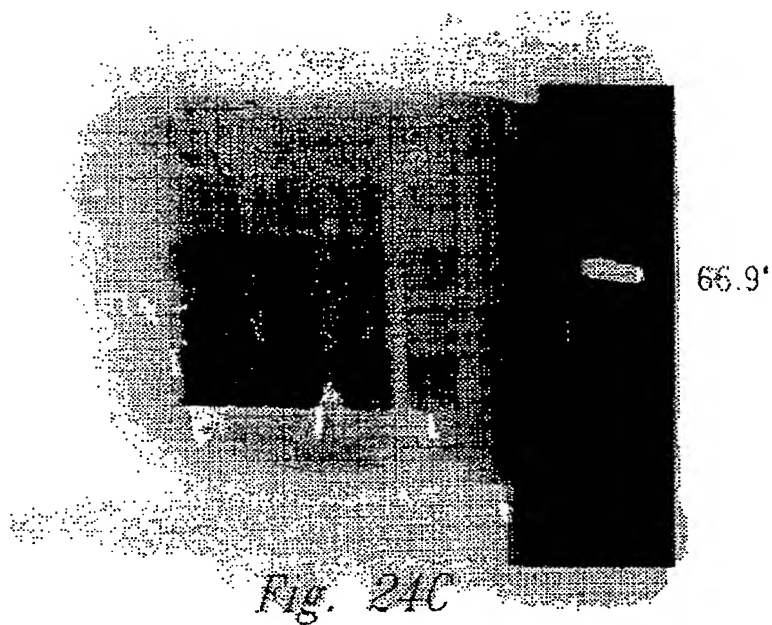


Fig. 23

【図24】

*Fig. 24A**Fig. 24B*

【図24】





## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Application No. PCT/SE 98/00196		
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 6 G01N21/55		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 90 05295 A (PHARMACIA AB) 17 May 1990 cited in the application see figures 1,8	1,17
A	HAYASHI T ET AL: "EXPERIMENTAL INSTRUMENT FOR OBSERVING ANGLE- AND FREQUENCY-SCANNED ATTENUATED TOTAL REFLECTION SPECTRA" REVIEW OF SCIENTIFIC INSTRUMENTS, vol. 67, no. 9, September 1996, pages 3039-3043, XP000627211 see figures 1,2	1,17
A	WO 93 14392 A (FISONS PLC) 22 July 1993 see figure 1	1,17
-/--		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "A" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 8 May 1998		Date of mailing of the international search report 22/05/1998
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer Tabellion, M

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern a: Application No  
PCT/SE 98/00196

C. (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	BERGER C E H ET AL: "RESOLUTION IN SURFACE PLASMON MICROSCOPY" REVIEW OF SCIENTIFIC INSTRUMENTS, vol. 65, no. 9, September 1994, pages 2829-2836, XP000469214 see figures 1,3 ----	1,17
A	KARLSEN S R ET AL: "SIMULTANEOUS DETERMINATION OF REFRACTIVE INDEX AND ABSORBANCE SPECTRA OF CHEMICAL SAMPLES USING SURFACE PLASMON RESONANCE" SENSORS AND ACTUATORS B, vol. B25, no. 1/03, PART 02, 1 April 1995, pages 747-749, XP000532856 see figure 3 ----	1,17
A	KNOLL W: "OPTICAL CHARACTERIZATION OF ORGANIC THIN FILMS AND INTERFACES WITH EVANESCENT WAVES" MRS BULLETIN, vol. 16, July 1991, pages 29-39, XP002032128 see figures 4,5 ----	1,17
A	LENFERINK A T M ET AL: "AN IMPROVED OPTICAL METHOD FOR SURFACE PLASMON RESONANCE EXPERIMENTS" SENSORS AND ACTUATORS B, vol. B3, no. 4, 1 April 1991, pages 261-265, XP000243208 cited in the application see figures 1,2 ----	1,17
A	EP 0 286 195 A (TNO) 12 October 1988 see figures 3,5 -----	1,17

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Internat'l Application No

PCT/SE 98/00196

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9005295 A	17-05-1990	SE 462408 B	18-06-1990
		DE 68912343 D	24-02-1994
		DE 68912343 T	05-05-1994
		EP 0534941 A	07-04-1993
		EP 0442921 A	28-08-1991
		JP 4504765 T	20-08-1992
		JP 4501462 T	12-03-1992
		SE 8804075 A	10-11-1988
		WO 9005317 A	17-05-1990
		US 5164589 A	17-11-1992
		US 5313264 A	17-05-1994
WO 9314392 A	22-07-1993	NONE	
EP 0286195 A	12-10-1988	NL 8700851 A	01-11-1988
		JP 1308946 A	13-12-1989
		US 4889427 A	26-12-1989

**THIS PAGE LEFT BLANK**